

AKUTE PHASE PROTEINE ALS DIAGNOSTISCHE PARAMETER DER PERIOPERATIVEN PHASE BEIM PFERD

MIRIAM SUSANNE MILLER

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2006

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2006

© 2006 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus der Klinik für Pferde, -Chirurgie- mit Lehrschiene und Klinik für
Kleintiere, Innere Medizin, klinische Pathophysiologie und klinische
Laboratoriumsdiagnostik der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. L.-F. Litzke

Prof. Dr. A. Moritz

Akute Phase Proteine als diagnostische Parameter der perioperativen Phase beim Pferd

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Miriam Susanne Miller

Tierärztin aus Mühlacker (Kreis Pforzheim)

Gießen 2006

**Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

Gutachter: Prof. Dr. L.-F. Litzke

Prof. Dr. A. Moritz

PD Dr. T. Hübschle

Tag der Disputation: 10.05.2006

Meiner Familie und Martin
in Liebe und Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG.....	4
2.	SCHRIFTTUM	6
2.1	Reaktion des Körpers auf Entzündungsreize	6
2.1.1	Lokale Entzündungsreaktion	7
2.1.1.1	Kardinalsymptome der Entzündung.....	9
2.1.2	Systemische Entzündungsreaktion.....	10
2.1.2.1	Unspezifische zelluläre Immunantwort	11
2.1.2.1.1	Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG).....	12
2.1.2.1.2	Thrombozyten	14
2.1.2.2	Unspezifische humorale Immunantwort.....	17
2.1.2.2.1	Komplementsystem	17
2.1.2.2.2	Kallikrein-Kinin-System.....	19
2.1.2.3	Mediatoren	19
2.1.2.3.1	Lipidmediatoren	19
2.1.2.3.2	Peptidmediatoren (Zytokine)	21
2.1.2.3.2.1	Tumor Nekrose Faktor- α und - β (TNF- α und - β)	22
2.1.2.3.2.2	<i>Transforming growth factor</i> - β (TGF- β).....	23
2.1.2.3.2.3	Interferon- γ (IFN- γ).....	23
2.1.2.3.2.4	Interleukin-1 (IL-1)	23
2.1.2.3.2.5	Interleukin-6 (IL-6)	25
2.1.2.3.2.6	Interleukin-8 (IL-8)	27
2.1.2.4	Biogene Amine und Neuropeptide.....	28
2.1.2.5	Glukokortikoide.....	28
2.1.3	Akute Phase Proteine (APP)	30
2.1.3.1	Serum-Amyloid-A (SAA).....	31
2.1.3.2	Haptoglobin (Hp)	34
2.1.3.3	Fibrinogen	37
2.1.3.4	C-reaktives-Protein (CRP).....	39
2.1.3.5	Coeruloplasmin.....	40
2.1.3.6	α_1 -saures Glykoprotein (Oromukoid)	41
2.1.3.7	α_2 -Makroglobulin.....	41
2.1.3.8	Serin-Proteinase Inhibitoren/Serpine.....	42
2.1.3.9	Ferritin	43
2.1.3.10	Prokalzitonin (PCT)	44

2.1.3.11	Lipopolysaccharidbindendes Protein (LBP).....	44
2.1.3.12	Albumin	45
2.1.3.13	Transferrin	45
2.2	Diagnostischer Einsatz Akuter Phase Proteine beim Pferd	46
2.3	Akute Phase Proteine in der klinischen Anwendung	46
2.4	Hintergrund und Fragestellung der wissenschaftlichen Arbeit	48
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	49
3.1	Material und Methoden.....	49
3.1.1	Probengewinnung.....	49
3.1.1.1	Entnahmeprotokoll und klinische Untersuchung.....	49
3.1.1.2	Entnahme der Blutproben.....	50
3.1.1.3	Probenaufbereitung	50
3.1.2	Laboruntersuchungen.....	50
3.1.3	Methodenvergleich	51
3.1.3.1	Vet ABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich)	51
3.1.3.2	QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt)	51
3.1.3.3	Manuelle Leukozytendifferenzierung/ADVIA (Bayer®, Leverkusen).....	53
3.1.4	Proteinbestimmung.....	53
3.1.4.1	Interleukin-6 (IL-6)	53
3.1.4.2	Totalplasmaprotein (TPP).....	55
3.1.4.3	Albumin	55
3.1.4.4	Globulin	55
3.1.4.5	Serum-Amyloid-A (SAA).....	55
3.1.4.6	Haptoglobin	56
3.1.4.7	Fibrinogen	57
3.1.5	Gruppen	58
3.1.5.1	Referenzgruppe.....	59
3.1.5.2	Arthroskopische Eingriffe (Gruppe 1)	59
3.1.5.3	Laparoskopische Eingriffe (Gruppe 2).....	59
3.1.5.4	Konventionell-chirurgische Eingriffe (Gruppen 3 und 4)	60
3.1.6	Statistische Auswertung	61
3.2	Ergebnisse	62
3.2.1	Methodenvergleich	62
3.2.1.1	Hämatologie	62
3.2.1.2	Fibrinogenbestimmung	64
3.2.2	Lagerungsversuche	65

3.2.2.1	Zitrat-Plasma	65
3.2.2.2	Heparinplasma	67
3.2.3	Referenzgruppen.....	70
3.2.4	Ergebnisse der klinischen Untersuchung	72
3.2.4.1	Allgemeine klinische Untersuchung.....	72
3.2.4.1.1	Puls	72
3.2.4.1.2	Atmung	73
3.2.4.1.3	Körperinnentemperatur.....	74
3.2.4.2	Spezielle klinische Untersuchung	76
3.2.4.2.1	Allgemeinbefinden (AB).....	76
3.2.4.2.2	Schmerzhaftigkeit.....	77
3.2.4.2.3	Schwellung	78
3.2.4.2.4	Wärme.....	79
3.2.4.2.5	Exsudationsmenge und -charakter	80
3.2.5	Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung	82
3.2.5.1	Hämatokritwert (HKT).....	82
3.2.5.2	Gesamtleukozytenzahl (WBC-Count).....	84
3.2.5.3	Differenzialblutbild	86
3.2.5.3.1	Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG).....	86
3.2.5.3.2	Lymphozyten	89
3.2.5.3.3	Monozyten.....	91
3.2.5.4	Thrombozyten (PLT).....	92
3.2.6	Ergebnisse der Proteinbestimmung.....	93
3.2.6.1	Interleukin-6 (IL-6)	93
3.2.6.2	Totalplasmaprotein (TPP).....	94
3.2.6.3	Albumin	95
3.2.6.4	Globulin	97
3.2.6.5	Serum Amyloid A (SAA)	98
3.2.6.6	Haptoglobin (Hp)	99
3.2.6.7	Fibrinogen (Fib)	101
4	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	104
4.1	Diskussion des Methodenvergleichs	104
4.1.1	Vergleich des VetABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) mit QBC® VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt)	104
4.1.2	Fibrinogenbestimmung	105
4.2	Lagerungsversuche	106

4.2.1	Heparinplasma	106
4.2.2	Zitratplasma.....	107
4.3	Referenzgruppe.....	107
4.4	Diskussion der klinischen Untersuchung	108
4.4.1	Allgemeine klinische Untersuchung.....	108
4.4.2	Spezielle klinische Untersuchung	110
4.4.2.1	Allgemeinbefinden (AB).....	110
4.4.2.2	Schmerzhaftigkeit.....	111
4.4.2.3	Schwellung	111
4.4.2.4	Wärme.....	111
4.4.2.5	Exsudationsmenge und -charakter	112
4.5	Diskussion der hämatologischen Untersuchung.....	112
4.5.1	Hämatokritwert (HKT).....	112
4.5.2	Gesamtleukozytenzahl (WBC-Count).....	114
4.5.3	Differenzialblutbild	116
4.5.3.1	Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG).....	116
4.5.3.2	Lymphozyten/Monozyten.....	117
4.5.4	Thrombozyten (PLT).....	118
4.6	Diskussion der Proteinbestimmung	119
4.6.1	Interleukin-6 (IL-6)	119
4.6.2	Totalplasmaprotein (TPP), Albumin und Globulin.....	122
4.6.3	Serum Amyloid A (SAA)	123
4.6.4	Haptoglobin	127
4.6.5	Fibrinogen	128
5	ZUSAMMENFASSUNG	131
6	SUMMARY	135
7	LITERATURVERZEICHNIS	138
8	ANHANG.....	174
9	DANKSAGUNG	187

Im Text verwendete Abkürzungen

Abb.	=	Abbildung
APP	=	Akute Phase Proteine
APR	=	Akute Phase Reaktion
Arthr.	=	Arthroskopie
bzw.	=	beziehungsweise
cDNA	=	<i>cellular desoxyribonucleid acid</i> (zelluläre Desoxiribonukleinsäure)
CRP	=	C-reaktives Protein
d.h.	=	das heißt
dl	=	Deziliter
EHV-1	=	equines Herpesvirus-1
ELISA	=	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
et al.	=	et alii
Fa.	=	Firma
Fib	=	Fibrinogen
g	=	gramm
Gr.	=	Gruppe
Hb	=	Hämoglobin (<i>Haemoglobin</i>)
Hp	=	Haptoglobin
hrIL-6	=	humanes rekombinantes Interleukin-6
IFN-γ	=	Interferon-γ
IL-1	=	Interleukin-1
IL-6	=	Interleukin-6
IL-8	=	Interleukin-8
IU	=	International Units (internationale Einheit)
i.v.	=	intravenös
Kastr. m. Kompl.	=	Kastrationen mit Komplikationen
kD	=	kilo Dalton
K ₃ EDTA	=	Kalium-Ethylendiamintetraessigsäure
konv. Eingr.	=	konventionelle Eingriffe
L	=	Liter

Abkürzungsverzeichnis

Laparosk.	=	Laparoskopie
LBP	=	Lipopolysaccharidbindendes Protein
MCHC	=	<i>Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration</i> (Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten)
MCV	=	<i>Mean Corpuscular Volume</i> (Mittleres Erythrozytenvolumen)
mRNA	=	<i>messenger ribonucleic acid</i> (Botenribonukleinsäure)
n	=	Probenzahl
PAF	=	<i>platelet activating factor</i> (plättchenaktivierender Faktor)
PCT	=	Prokalzitonin
PCV	=	<i>Packed Cell Volume</i> (Hämatokritwert)
PLT	=	<i>Platelet Count</i> (Thrombozytenzahl)
PNG	=	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
p. OP	=	post operationem
QBC	=	Quantitative Buffy-Coat
r	=	Korrelationskoeffizient
RBC	=	<i>Red Blood Cell Count</i> (Erythrozytenzahl)
SAA	=	Serum Amyloid A
SD	=	Standardabweichung
SDS-PAGE	=	<i>Sodium dodecyl sulfate</i> – Polyacrylamid – Gelelektrophorese
s.	=	siehe
s.a.	=	siehe auch
S.	=	Seite
Tab.	=	Tabelle
Temp.	=	Temperatur
TGF- β	=	<i>transforming growth factor-β</i>
TNF- α	=	<i>tumor necrosis factor-α</i>
TNF- β	=	<i>tumor necrosis factor-β</i>
U/L Coeruloplasmin	=	Produktion von 1 μ mol o-nitroanilin/L (pH-Wert= 6,7/37°C)
μ g	=	Mikrogramm
μ l	=	Mikroliter

Abkürzungsverzeichnis

WBC = *White Blood Cell Count* (Leukozytengesamtzahl)

\bar{X} = arithmetischer Mittelwert

z.B. = zum Beispiel

1. EINLEITUNG

Die Erhaltung der physiologischen Homöostase während der Höhen und Tiefen des täglichen Lebens wird von einer Vielzahl an Regelkreisen gesteuert. Mitunter wird dieses Gleichgewicht durch Ereignisse wie Verletzungen oder Infektionen gestört, so dass eine Anpassung der Regelkreisläufe notwendig wird. Die lokale Reaktion des Gewebes auf Traumata und Infektionen ist die akute Entzündung. Dies manifestiert sich hauptsächlich in Veränderungen der Gefäßdurchmesser, der Erhöhung der Gefäßpermeabilität und der Aktivierung von Leukozyten. In den darauf folgenden Tagen zeigen sich auch systemische und metabolische Veränderungen. Diese systemische Antwort ist die Akute Phase Reaktion (APR) (KUSHNER, 1982). Akute Phase Proteine (APP) sind daher hilfreiche Indikatoren zur Erkennung von Störungen der körpereigenen Homöostase und zur Überwachung eines Krankheitsverlaufes. Die postoperative Überwachung und die Kontrolle des Heilungserfolges mit Hilfe von APP findet in der Tiermedizin im Vergleich zur Humanmedizin noch wenig Verwendung. Dies geschieht in Ermangelung geeigneter Parameter und Messverfahren, welche den Beginn bzw. den Grad einer entzündlichen Reaktion erkennen lassen.

Als APP bezeichnet man eine ganze Reihe von Proteinen mit unterschiedlicher Wirkungsweise, welche vor allem in der Leber im Verlauf der APR gebildet werden. Die Synthese wird durch Mediatoren (z.B. Interleukin-6) induziert, welche unter anderem von aktivierten Zellen des Immunsystems sezerniert werden. Diese Proteine dienen dem Schutz des Organismus vor schädigenden Einflüssen während einer Entzündungsreaktion und verhindern durch ihre meist antiinflammatorische Wirkung eine überschießende APR (WANG et al., 2001).

Während der Aufzucht und Haltung von Nutztieren sind APP schon seit längerem von Interesse. Durch Nutzung dieser Parameter erhofft man sich eine wesentliche Verbesserung der Lebensmittelhygiene (SAINI et al., 1998). Insbesondere Haptoglobin ist beim Rind ein guter Indikator bei Entzündungen, Traumata, Labmagenverlagerungen, bakteriellen oder viralen Infektionen, Metritiden, Mastitiden oder Fettlebersyndrom und kann zusammen mit Serum Amyloid A (SAA) sogar zur Differenzierung zwischen akuten und chronischen Entzündungen herangezogen werden (ALSEMGEEST et al., 1994; NAKAGAWA et al., 1997; HORADAGODA et al., 1999; HIRVONEN et al., 1999; DEIGNAN et al., 2000; HEEGAARD et al., 2000; ECKERSALL et al., 2001).

Auch bei Schweinen findet die Bestimmung der APP für eine Vielzahl von Untersuchungen Verwendung. Es existieren verschiedenste Studien, die APP zur Vorhersage der Gewichtsentwicklung, zur Früherkennung von Infektionskrankheiten und zur Differenzierung verschiedener Zuchtlinien hinsichtlich ihres Immunstatus heranziehen (HARDING et al., 1997; HEEGAARD et al., 1998; MAGNUSSON et al., 1999).

Dass die APP zukünftig in der Tiermedizin eine große Rolle spielen werden, zeigt die Gründung der „*European Commission Directorate General Research Concerted Action*“ im Februar 2000, welche der Vereinheitlichung der Nachweistests und Einheiten dient (SKINNER, 2001).

Thema der vorliegenden Arbeit ist die Bestimmung der Akute Phase Proteine (APP) Serum Amyloid A (SAA), Fibrinogen (Fib) und Haptoglobin (Hp) sowie des Zytokines Interleukin-6 (IL-6) nach verschiedenen chirurgischen Eingriffen und bei frischen Wunden. Zusätzlich wird bei jeder Probeentnahme das rote, das weiße und das Differenzialblutbild bestimmt und in Beziehung zum klinischen Bild gesetzt.

2. SCHRIFTTUM

2.1 Reaktion des Körpers auf Entzündungsreize

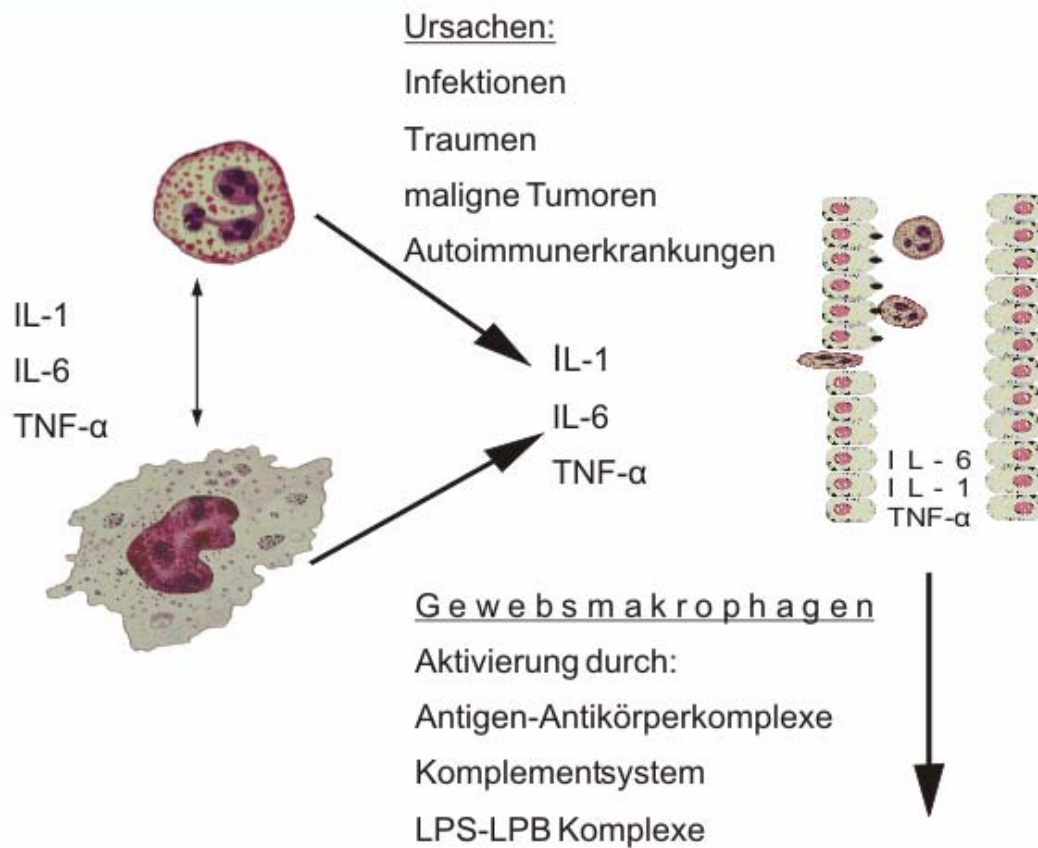
Entzündliche Veränderungen können zum einen durch Infektionen mit Viren, Bakterien, Pilzen und Parasiten, zum anderen aber auch durch immunpathologische Vorgänge, chemische und physikalische Noxen ausgelöst werden. An der lokalen Entzündungsreaktion sind Zellen des Immunsystems, das Gefäßendothel und die umliegenden Gewebezellen beteiligt. Es kommt unter anderem zur Aktivierung des Hämostase- sowie des Immunsystems und die Proteinbiosynthese in der Leber wird beeinflusst. Diese Veränderungen werden zusammenfassend mit dem Begriff der Akute Phase Reaktion (APR) der Entzündung bezeichnet (KUSHNER, 1982; PATTERSON et al., 1988; ANDUS et al., 1989; WEISS, 1990; JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Die Dauer, Ausprägung und Form sind abhängig von den einwirkenden Noxen. Für die Abwehr von Krankheitserregern im Blut sind verschiedene, sich ergänzende Systeme zu finden: das spezifische humorale und zelluläre Immunsystem, sowie das unspezifische humorale und zelluläre Abwehrsystem, welches die APR vermittelt.

Damit die Regeneration des Gewebes einsetzen kann, begrenzt die körpereigene Abwehr einen Gewebeschaden lokal, beseitigt die verursachenden Substanzen und entfernt das geschädigte Gewebe. Die kontrollierte inflammatorische Reaktion dient der Elimination der Infektion. Läuft diese Reaktion unkontrolliert ab, kann das zu Multiorganversagen und Tod führen (SCHUMANN und ZWEIGNER, 1999; MACKAY, 2000; WEISS und EVANSON, 2002).

2.1.1 Lokale Entzündungsreaktion

Am Anfang der Entzündung steht die lokale Reaktion. Gefäßdilataion, erhöhte Gefäßpermeabilität, Aktivierung des Gerinnungssystems und Adhäsion bzw. Emigration von Leukozyten sind Ausdruck dafür (GANGUR et al., 2002). Am Entzündungsort sammeln sich Zellen wie polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG) und Makrophagen, welche durch den Stimulus eine Vielzahl von Mediatoren freisetzen. Die unspezifische humorale Abwehr basiert auf dem Kinin-Bradykininsystem, dem Komplementsystem und den Gerinnungsfaktoren (HIGGINS und LEES, 1984). Negativ geladene Oberflächen (z.B. die Basalmembran) oder negativ geladene Ionen aktivieren den Hagemann-Faktor (Faktor XII des Gerinnungssystems), welcher dann Gerinnungs-, Komplement- und Kininsystem aktiviert. Kinine sind sehr wirkungsvolle Vasodilatoren, die eine erhöhte Durchblutung des betroffenen Gewebes bewirken. Dadurch verlangsamt sich der Blutstrom und erleichtert so die Adhäsion der Leukozyten (KAPLAN et al., 1982; DARGEL, 1995a). Zytokine wie Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α), Interleukin-1 (IL-1) und besonders Interleukin-8 (IL-8) führen zur Expression von Glykoprotein-Komplexen, welche die Adhäsion der Leukozyten an das Endothel unterstützen (GANGUR et al., 2002).

Lokale Entzündungsreaktion



Systemische Entzündungsreaktion

Abb. 1: Ablauf der lokalen bzw. systemischen Reaktionen (ANDUS et al., 1989; JENSEN und WHITEHEAD, 1998)

2.1.1.1 Kardinalsymptome der Entzündung

Bereits 35 n. Chr. postulierte CELSUS die vier Kardinalsymptome der Entzündung *rubor et tumor cum calore et dolore*. Die *functio laesa* wurde im 19. Jahrhundert von VIRCHOW hinzugefügt. Rötung, Schwellung, Wärme, Schmerz und Funktionsausfall beschreiben die äußerlich sichtbaren Folgen komplexer vaskulärer, immunologischer und zellulärer Reaktionen (HIGGINS und LEES, 1984).

Kinine erhöhen den peripheren arteriellen Blutfluss und bewirken gleichzeitig im Kapillarbereich eine Kontraktion der Endothelzellen. Zytokine verursachen Veränderungen des Zytoskeletts der Endothelzellen. Die entstehenden Lücken im Gefäßendothel erleichtern die Diapedese von Entzündungszellen (DARGEL et al., 1995). Weil Kinine zusätzlich eine Vasokonstriktion der Venolen herbeiführen, kommt es im Entzündungsgebiet zum Flüssigkeitsaustritt in das umliegende Gewebe (DARGEL et al., 1995). Dies setzt die intravasalen Scherkräfte herab, was die Anheftung von PNG und Monozyten erleichtert (DARGEL et al., 1995).

Histamin hat relaxierende Wirkung auf die glatte Muskulatur der Gefäße und bewirkt nachfolgend eine Absenkung des Blutdruckes und eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität im Kapillarbereich (BUDDECKE, 1994). Rötungen im Zentrum des Entzündungsherd sind ebenfalls Folge der Histaminwirkung (DARGEL et al., 1995).

Die Freisetzung von Neuropeptiden ist für die gesteigerte Schmerzempfindlichkeit bei Weichteilverletzungen verantwortlich. Zu den dabei wirksam werdenden Neuropeptiden zählen Substanz P, Dynorphin und *calcitonin gene related peptid* (DARGEL et al., 1995).

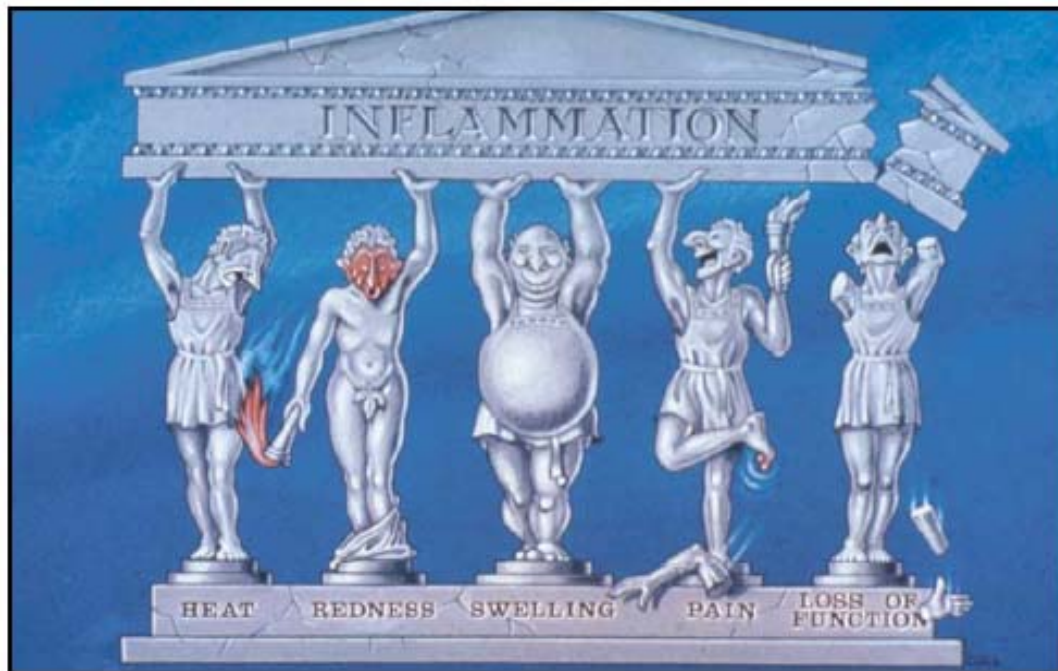


Abb. 2: Kardinalsymptome der Entzündung nach Celsus (übernommen von LAWRENCE et al., 2002)

2.1.2 Systemische Entzündungsreaktion

Die Akute Phase Reaktion (APR) ist Ausdruck für die Veränderung der körpereigenen Homöostase als Reaktion auf die verschiedensten Traumata (KUSHNER et al., 1989).

Die systemische APR besteht unter anderem aus Fieber, Leukozytose, gesteigerter Glukokortikoidsekretion, Konzentrationsänderungen von Eisen, Zink und Kupfer in Blut und Leber, Aktivierung der Gerinnung, des Komplementsystems, des Kininsystems und der Fibrinolyse, einer negativen Stickstoffbilanz, Veränderungen des Aminosäurestoffwechsels und insbesondere aus drastischen Veränderungen der Plasmaproteinzusammensetzung (KOJ et al., 1988; KUSHNER et al., 1989; AUER et al., 1989). Auch das Endokrinium ist von den Veränderungen während der APR betroffen. Erkrankte und verletzte Individuen haben gesteigerte Plasmakonzentrationen von Hormonen, darunter Glukagon, Insulin, ACTH, Kortisol, Katecholamine, Wachstumshormone, Thyreotropes Hormon (TSH), Thyroxin,

Aldosteron und Vasopressin (KUSHNER, 1982; MILLS et al., 1997; MILLS et al., 1998). Durch Entzündungsreize aktivierte Gewebemakrophagen und Monozyten produzieren eine Vielfalt von Entzündungsmediatoren: Interleukine (IL), TNF- α , Eikosanoide, verschiedene *colony stimulating factors* (CSF), Interferone u.a. (ANDUS et al., 1989; DINARELLO, 1994). Die Aktivierung der systemischen Reaktion wird durch diese Mediatoren vermittelt. Interleukin-6 (IL-6), TNF- α und IL-1 steigern die Prostaglandin-E₂-Synthese, woraus die Erhöhung der Körperinnentemperatur resultiert (MORRIS et al., 1990; MORRIS, 1991; MORRIS et al., 1992b). IL-6 fördert die Granulopoese (ANDUS et al., 1989). Die hepatische APR wird ebenfalls von mehreren Mediatoren induziert. Die wichtigsten sind IL-1, TNF- α , Interferon- γ , *Transforming growth factor*- β (TGF- β) und IL-6. Einen Überblick über den aktuellen Stand der Forschung gibt auch die Veröffentlichung von Lawrence (2003).

2.1.2.1 Unspezifische zelluläre Immunantwort

Nach SCHILLING (1924) kommt es infolge eines Traumas oder einer Infektion zur Veränderung des Differenzialblutbildes. Er unterscheidet die Kampfphase, welche nach einer initialen Leukozytopenie von einer Neutrophilie mit Kernlinksverschiebung bei gleichzeitiger Lymphozytose, Eosinopenie und Monozytopenie dominiert wird von der Überwindungs- und Heilungsphase. Merkmal der Überwindungsphase ist eine Monozytose. Die Heilphase ist durch eine Lymphozytose, Eosinophilie (auch unter *eosinophiler Morgenröte* bekannt) und Rückkehr der Neutrophilen in den Referenzbereich geprägt (KRAFT und DÜRR, 2005).

Der Anstieg der absoluten Leukozytenzahl im Blut infolge einer Entzündung fällt beim Pferd deutlich geringer aus als bei anderen Spezies wie z.B. Hund und Katze (JAIN, 1986a). Neben einem Entzündungsreiz kann auch Stress, Angst oder Training zu einer Leukozytose führen. Dabei werden durch den schnelleren Blutfluss Leukozyten aus dem marginalen Leukozytenpool wieder ins Blut geschwemmt (JAIN, 1986a). Die intraartikuläre Injektion von Lipopolysaccharid führt bei Pferden innerhalb von 8 Stunden zu einem Anstieg der Gesamtleukozytenzahl und der polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG) (HAWKINS et al., 1993). Im Gegensatz dazu verursacht eine Kastration mit oder ohne Wundheilungsstörung innerhalb von 8 Tagen p OP keine signifikanten Veränderungen der Gesamtleukozytenzahl (JACOBSEN et al., 2005a).

2.1.2.1.1 Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG)

Die systemische Entzündungsreaktion ist in ihrer akuten Phase durch die Aktivierung von Makrophagen und PNG geprägt (ANDUS et al., 1989).

Zu Beginn einer Entzündungsreaktion phagozytieren Gewebemakrophagen Pathogene wie Antigen-Antikörper-Komplexe, Bakterien, Lipopolysaccharide (LPS), Zellfragmente und Ähnliches. Um andere Zellen des Immunsystems zu aktivieren setzen sie chemotaktisch aktive Substanzen frei. Diese Chemotaxine regen unter anderem Leukozyten zur Leukodiapedese an. Chemotaktisch wirksam sind die von Makrophagen freigesetzten Zytokine (IL-1, TNF- α), Chemokine (IL-8) aber auch Komplementfaktoren (Komplementfaktor C5a), Eikosanoide (Prostaglandin-E₂, Leukotrien B₄), *Platelet activating factor* (PAF) und LPS (SEETHANATHAN et al., 1990; JENSEN und WHITEHEAD, 1998; JONES und BLIKSLAGER, 2001; GANGUR et al., 2002).

Die Leukodiapedese ist in verschiedene Phasen eingeteilt. Zuerst erfolgt eine hämodynamische Margination der zirkulierenden PNG vor allem in postkapillären Venolen. Indem die PNG an aktiviertem Endothel, Thrombozyten oder einer freiliegenden extrazellulären Matrix kurzzeitig binden, scheinen sie über die Oberfläche zu rollen (s. a. Abb.3). Während dieser kurzzeitigen Bindungsphase erfolgt die Aktivierung der PNG mit Hilfe von chemotaktisch aktiven Substanzen. Zytokine (IL-1, TNF- α), Chemokine (IL-8), LPS, Leukotrien B₄, plättchenaktivierender Faktor (PAF - in vitro), Komplementfaktoren (humaner rekombinanter Komplementfaktor C5a - in vitro) und Immunkomplexe (Antigen-Antikörper) verursachen eine Aktivierung der PNG (SERTEYN et al., 1999; JONES et al., 2001; RICKARDS et al., 2001; CHILCOAT et al., 2002; WEISS und EVANSON, 2002). Nur aktivierte PNG können fest an die entsprechende Oberfläche gebunden werden. Die Diapedese wird durch aktive Abflachung der PNG mit gleichzeitiger Kontraktion der Endothelzellen ermöglicht. Im Gewebe erfolgt die Migration mit Hilfe von Konzentrationsgradienten verschiedener Mediatoren (JONES und BLIKSLAGER, 2001; RICKARDS et al., 2001; GANGUR et al., 2002).

Vorraussetzung für das Rollen bzw. die temporäre Bindung von Leukozyten sind Selektine (XU et al., 2005). Diese kohlenhydratbindenden Proteine befinden sich auf der Oberfläche von Leukozyten (L-Selektine), Endothelzellen (E- und P-Selektine) und Thrombozyten (P-Selektine) (HEDGES et al., 2001; XU et al., 2005). Sie binden

reversibel an kohlenhydratreiche Muzine auf der Oberfläche von Endothelzellen und Leukozyten (JONES und BLIKSLAGER, 2001). E-Selektine auf der Oberfläche der Endothelzellen sind Merkmal einer Aktivierung durch Zytokine (IL-1) und Chemokine (IL-8), Histamin, LPS, Viren und Leukotrien- C_4 (DARGEL, 1995b). Insbesondere das LPS bewirkt eine Expression von E-Selektin beim Pferd innerhalb von 2 Stunden in vitro (HEDGES et al., 2001). Die Adhäsion der PNG an aktivierte Endothelzellen über E-Selektin führt zu einer Formveränderung und in vitro zu einer gesteigerten Transmigration gegenüber nicht stimulierten PNG (HEDGES et al., 2001). Während der Margination werden in der Zellmembran des PNG lokalisierte Integrine, insbesondere $\alpha_M\beta_2$ (CD 11b/18; Mac-1) aktiviert (CHILCOAT et al., 2002; WEISS und EVANSON, 2002). Das Integrin $\alpha_M\beta_2$ bindet an das *Intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) in der Membran von Endothelzellen, den Komplementfaktor iC3b, immobilisiertes Fibrinogen und das in der Thrombozytenmembran ständige Glykoprotein GP1b α (EHLERS et al., 2003; FLICK et al., 2004). Die Transmigration wird durch eine gesteigerte Gefäßpermeabilität erleichtert (MACKAY, 2000). Endothelzellen kontrahieren oder lösen sich ganz von der Basalmembran ab (DARGEL et al., 1995).

Sobald die aktivierten PNG am Entzündungsort angelangt sind, setzen sie Sauerstoffradikale frei. Durch die Fähigkeit, reaktive Sauerstoffspezies (Superoxidradikale, Hydroxylradikale und Wasserstoffperoxyd) zu bilden, sind PNG in der Lage, organische Strukturen zu zerstören. Eine weitere Fähigkeit ist die Phagozytose von Zelltrümmern. Dabei setzen sie eine Vielzahl von Proteasen, wie z.B. Elastase, Kollagenase, Proteinase und Kathepsin G frei (MACKAY, 2000; JONES und BLIKSLAGER, 2001). Beim Pferd ist die Elastaseaktivität deutlich geringer als beim Menschen (VON FELLEBERG et al., 1985). Diese Elastasen werden von α_2 -Makroglobulin gebunden und inaktiviert (SALVESEN et al., 1983).

Die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies ist bei Pferden in vitro in geringem Maße durch den humanen rekombinanten Komplementfaktor C5a und in einem höheren Maße durch PAF, Histamin, Bindung an einen Antigen-Antikörper-Komplex und LPS induzierbar (SERTEYN et al., 1999; JONES et al., 2001; RICKARDS et al., 2001; MASSOCO und PALERMO-NETO, 2003). Equine PNG können durch LPS nur in Kombination mit Plasmafaktoren, beim Menschen sind dies Lipopolysaccharid bindendes Protein (LBP) oder die High Density Lipoproteinfraktion (HDL), zur Freisetzung von Sauerstoffradikalen stimuliert werden (BENBAREK et al., 1998).

Aktivierte PNG synthetisieren neben Sauerstoffradikalen auch Eikosanoide und Zytokine wie IL-6, IL-1 und TNF (DARGEL et al., 1995).

Während eines septischen Geschehens werden im Blut zirkulierende Monozyten und PNG aktiviert und aktivieren bzw. schädigen ihrerseits das Endothel im gesamten Blutkreislauf. Dabei sind PNG, welche durch LPS oder TNF- α angeregt werden, weniger deformierbar. WEISS und EVANSON (2001) zeigen dabei den Zusammenhang zwischen verringerter Extravasion, intravasaler Degranulation und Schädigung des Endothels oder verschiedener Parenchyme. Besonders beim Pferd reagieren viele Zellen des Immunsystems und Endothelzellen deutlicher und schneller als die anderer Arten auf LPS. Dies kann in einer disseminierten intravasalen Gerinnung, Multi-Organversagen und Tod enden (HEDGES et al., 2001; WEISS und EVANSON, 2002).

2.1.2.1.2 Thrombozyten

Thrombozyten sind sehr kleine aber bedeutende Effektoren der Hämostase. Diese anukleären Zytoplasten spielen wegen ihrer Interaktion mit Leukozyten und der Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren eine große Rolle im Entzündungsgeschehen (WEYRICH et al., 2003). Die während einer Entzündungsreaktion aktivierten Thrombozyten verändern ihre Gestalt (Bildung von Lamellipodien und Filopodien), es kommt zu einer Umstrukturierung im Thrombozyt sowie zur Degranulation (DARGEL et al., 1995; MCCARTY et al., 2004; MANGIN et al., 2004). Bei der Verschmelzung dieser Granulamembranen mit der Außenmembran gelangen P-Selektine auf die Außenfläche der Thrombozyten (MORITZ et al., 2003). Nach bzw. gleichzeitig mit ihrer Aktivierung binden Thrombozyten an Kollagen, andere Thrombozyten, Fibrinogen, den von Willebrand-Faktor, Leukozyten und Fibronektin (MCCARTY et al., 2004).

Das Rollen von Leukozyten an gebundenen, aktivierten Thrombozyten wird über die Interaktion P-Selektin (Thrombozyt) mit dem P-Selektin Glykoprotein Liganden-1 (PSGL-1)-Rezeptor (CD 162) auf dem Leukozyten vermittelt (XU et al., 2005). Die Interaktion und feste Bindung zwischen Leukozyten und Thrombozyten geschieht durch das Leukozyten Integrin $\alpha_M\beta_2$ (CD11bCD18/Mac-1) und den Thrombozytenrezeptor GPIIb α (WEYRICH et al., 2003). Diese Adhärenz von Leukozyten an Thrombozyten gewährleistet die Leukodiapedese durch einen

vaskulären Thrombus, ist aber auch für die Bildung zirkulierender Leukozyten-Thrombozyten-Aggregate während einer Sepsis verantwortlich (EHLERS et al., 2003; WEYRICH et al., 2003). Der Nachweis von P-Selektinen auf Thrombozyten von Hunden kann als frühzeitiger Indikator einer Aktivierung infolge septischer und nichtseptischer Infektionen eingesetzt werden (MORITZ et al., 2005).

Die von Thrombozyten freigesetzten proinflammatorischen Mediatoren entstammen entweder Speichergranula, dem Eikosanoid- bzw. Phospholipidsyntheseweg oder werden in den Thrombozyten mit Hilfe dort nachgewiesener mRNA synthetisiert (WEYRICH et al., 2003). Adenosindiphosphat (ADP) und 5-Hydroxytryptamin (5-HT) sind in den dichten Granula von equinen Thrombozyten in hohen Konzentrationen gespeichert. Thrombozyten aggregieren in Anwesenheit von PAF, 5-HT, Histamin und ADP, wobei PAF und Thrombin die Sekretion innerhalb von wenigen Minuten (in vitro) stimulieren (BAILEY et al., 2000; WEYRICH et al., 2003). Entsprechend BAILEY et al. (2000) kann man aber nur nach Inkubation mit PAF eine dosisabhängige Aggregation und Freisetzung von 5-HT und eine Produktion von Thromboxan beobachten, wobei eine kalziumabhängige PAF-Thrombozyten-Interaktion notwendig scheint, um die Phosphodiesterase-4 des Eikosanidsynthesewegs zu aktivieren (RICKARDS et al., 2003).

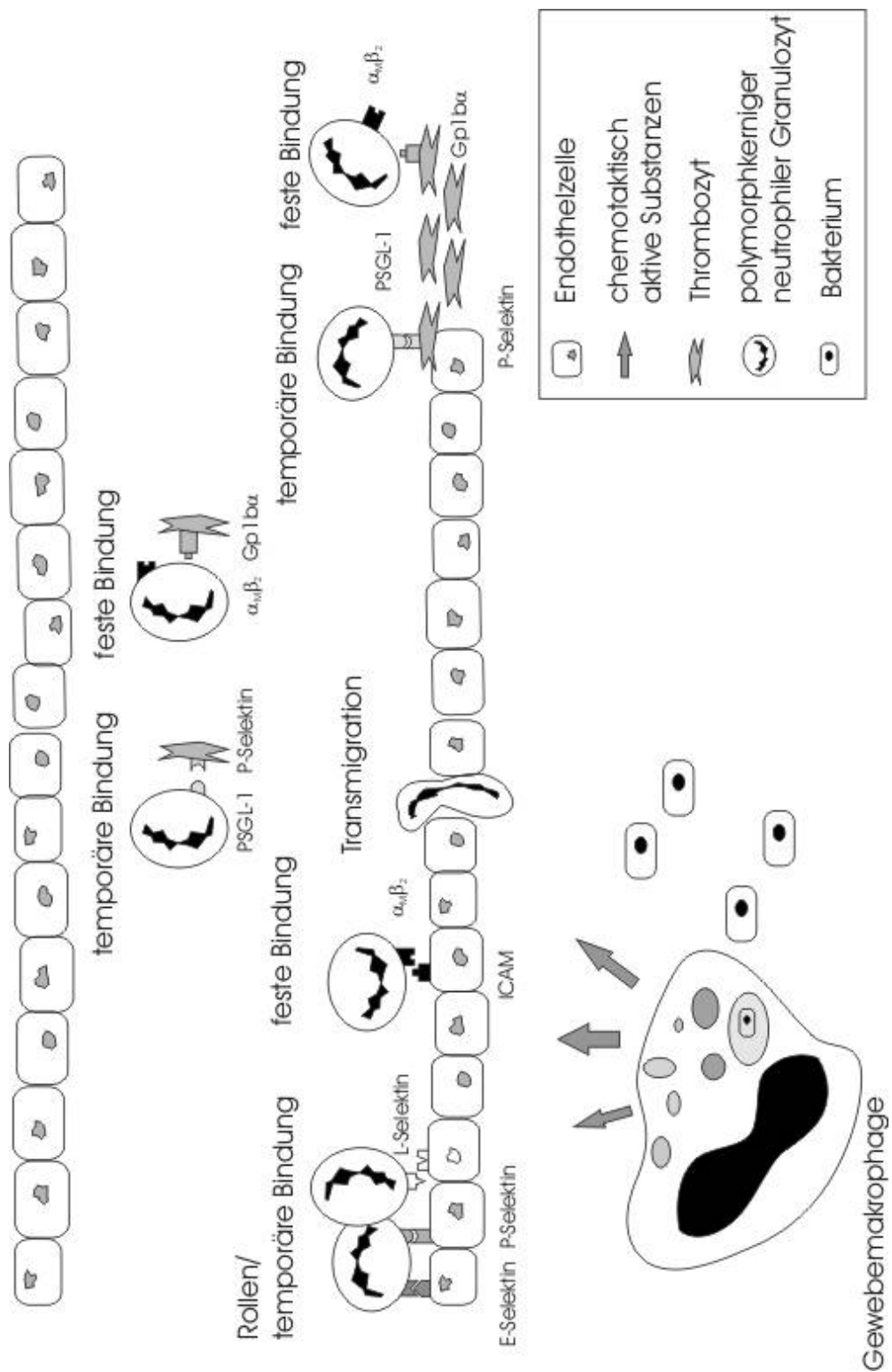


Abb. 3: Bindung von PNG an Endothel, freie und gebunden Thrombozyten und Leukodiapedese.

2.1.2.2 Unspezifische humorale Immunantwort

2.1.2.2.1 Komplementsystem

Das Komplementsystem ist eine Hauptsäule des Immunsystems. Es besteht aus ca. 20 einzelnen Plasmaproteinen. Die aktivierten Komplementproteine sind für die Schädigung der Zellmembran von Bakterien, Pilzen und höheren Organismen in der Abwesenheit von spezifischen Antikörpern verantwortlich. Vor allem bei Entzündungen in Folge einer Infektion übernimmt das Komplementsystem eine Schlüsselrolle. Dieses System beeinflusst die Mikrozirkulation, die glatte Muskulatur, die chemotaktische Aktivität von Entzündungszellen und die Freisetzung weiterer Entzündungsmediatoren, während es selbst zytotoxische Aktivität besitzt. Das Komplementsystem kann auf zwei verschiedene Wege aktiviert werden (s. Abb. 4). Dabei findet eine enzymatische Kaskadenreaktion statt, d.h. die proteolytische Spaltung einer Komplementkomponente führt zur Freisetzung aktiver Proteasen. Der so genannte alternative, phylogenetisch ältere Weg wird durch Bakterien, Parasiten, ionisierende Strahlung und aggregierte Immunglobuline aktiviert. Zur Aktivierung des klassischen Weges kommt es, wenn das Komplementmolekül C1 mit einem Antigen-Antikörper-Komplex interagiert. Nach Ablauf der Komplementkaskade sind biologisch aktive Peptide entstanden, welche auf kleine Gefäße, glatte Muskulatur, Mastzellen und PNG wirken (WECKER, 1990; DARGEL et al., 1995). Der klassische Weg der Komplementaktivierung kann auch durch C-reaktives Protein ausgelöst werden (MOLD et al., 1982; SZALAI et al., 1999).

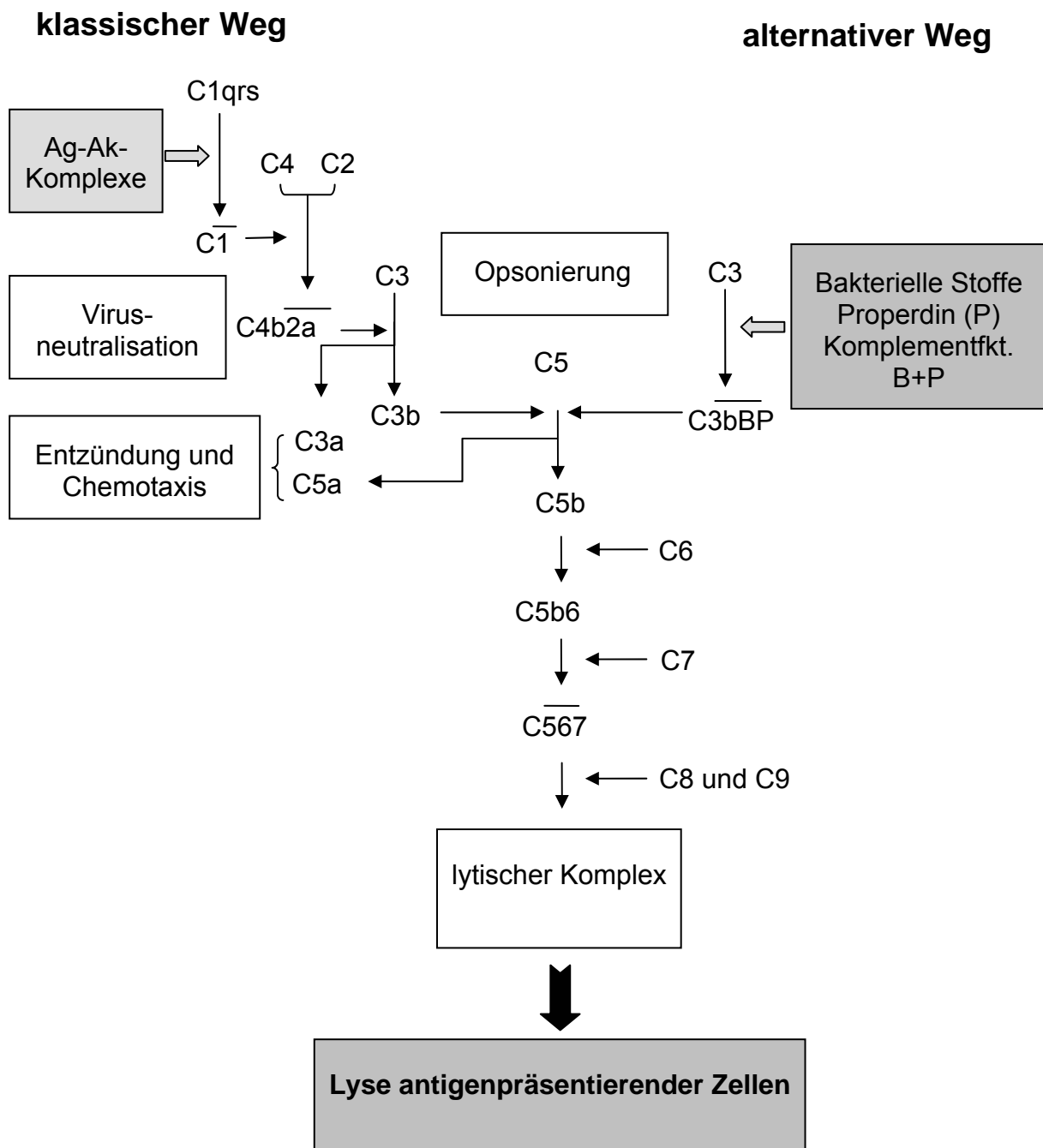


Abb. 4: Schematische Darstellung der Komplementaktivierung modifiziert nach SCHMIDT und THEWS (1997).

Legende: C=Komplementfaktor; Ag-Ak-Komplex= Antigen-Antikörperkomplex;
Komplementfkt. B+P= Komplementfaktoren B und P

2.1.2.2.2 Kallikrein-Kinin-System

Kinine sind vasodilatatorische Gewebshormone. Sie entstehen aus Vorläuferproteinen, den Kininogenen mit Hilfe von trypsinähnlichen Proteasen, den Kallikreinen. Kallikreine kommen in zahlreichen Geweben ebenso wie in PNG vor (DARGEL et al., 1995). Das Kallikrein-Kinin-System wird durch verschiedene Proteasen wie Trypsin, bakterielle Proteasen, Kallikrein selbst und durch den Hagemann-Faktor aktiviert. Kinine wirken hauptsächlich auf das periphere Gefäßsystem. Außerdem verstärken sie auch die Synthese und Sekretion weiterer Mediatoren wie Prostaglandin, Leukotrien, Histamin und verschiedener Zytokine (DARGEL et al., 1995; SCHMIDT und THEWS, 1997).

2.1.2.3 Mediatoren

2.1.2.3.1 Lipidmediatoren

Zu den Lipidmediatoren gehört neben der großen Gruppe der Eikosanoide auch der *platelet activating factor* (PAF). Eikosanoide sind Derivate von C₂₀-Fettsäuren. Es handelt sich bei den Molekülen dieser Gruppe hauptsächlich um Gewebshormone, die am Ort ihrer Freisetzung wirken (s. Abb. 5).

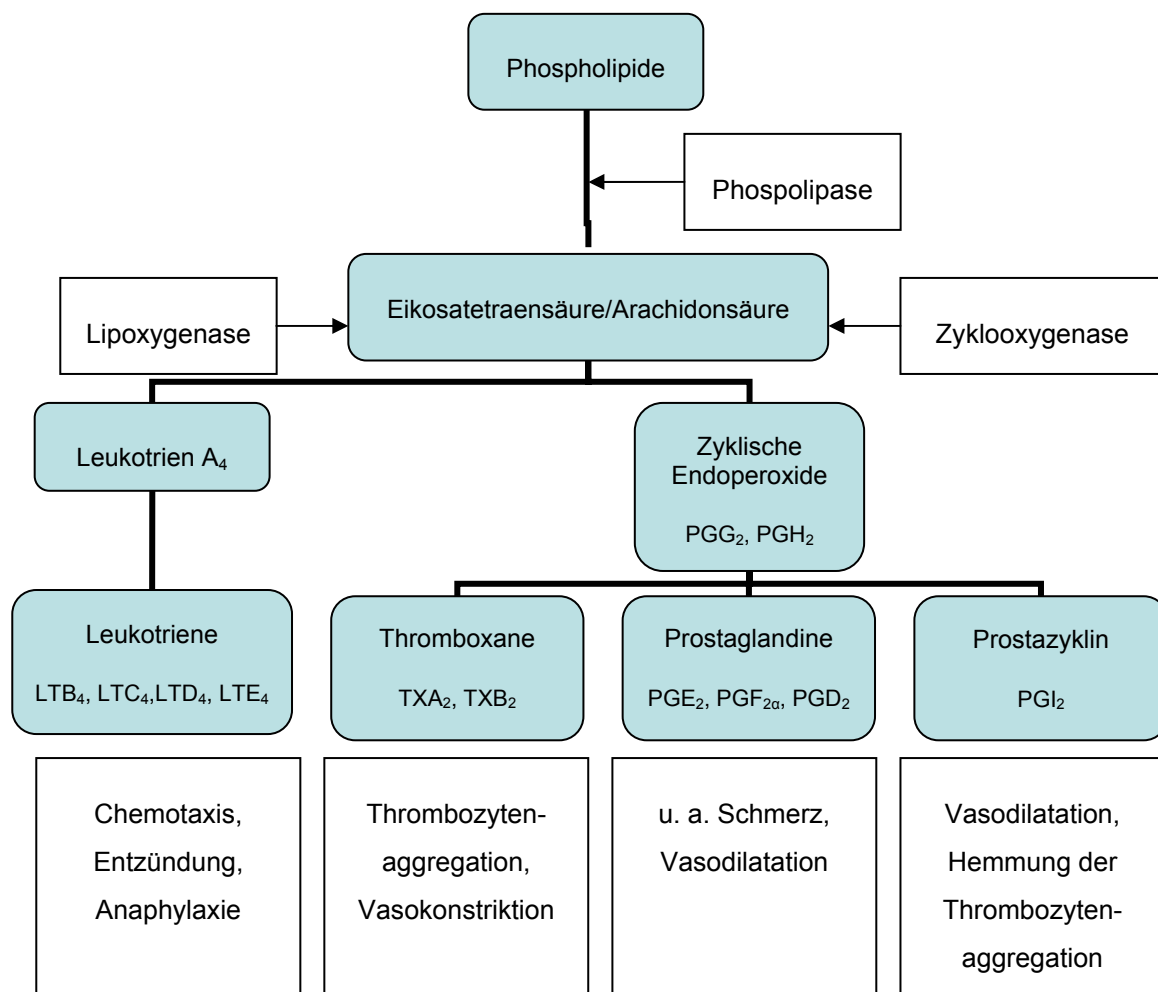


Abb. 5: Bildung und Wirkung von Eikosanoiden, modifiziert nach SCHMIDT und THEWS (1997).

Eikosanoide spielen eine wichtige Rolle während des Entzündungsprozesses. Sie wirken vasodilatatorisch, leukotaktisch, bronchokonstriktorisch, steigern die Gefäßpermeabilität und induzieren Schmerz sowie die Aggregation von Thrombozyten (HIGGINS und LEES, 1984). Tierexperimentell konnte nachgewiesen werden, dass ein Zusammenhang zwischen der Abgabe von Leukotrienen und klinischen Entzündungssymptomen besteht. Im Vergleich zu gesunden Gelenken sind in der Synovia osteoarthritischer Gelenke die Konzentrationen von Prostaglandin-E₂ und Substanz P deutlich erhöht (KIRKER-HEAD et al., 2000).

Der PAF ist, ähnlich wie die Leukotriene, ein äußerst effektiver Mediator während einer Entzündung oder anaphylaktischen Reaktion (DARGEL et al., 1995). Die Synthese von PAF in Endothelzellen wird durch Thrombin, Histamin, Bradykinin,

Angiotensin-II, Vasopressin, Leukotrien-C₄ oder Leukotrien-D₄, IL-1, TNF- α und Antikörper induziert. Auf der Zelloberfläche von PNG, Monozyten und Thrombozyten befinden sich PAF-Rezeptoren.

2.1.2.3.2 Peptidmediatoren (Zytokine)

Unter dem Begriff Zytokine wird eine Gruppe von Proteinen verstanden, die hauptsächlich von mononukleären Zellen sezerniert werden. Allerdings kommunizieren alle Zellen, die an Immunreaktionen und entzündlichen Prozessen beteiligt sind, miteinander über Zytokine. Hierbei handelt es sich um Polypeptidhormone, die je nach Bildungsort als Lymphokine, Monokine, Chemokine, Interleukine oder Interferone bezeichnet werden. Für das Entzündungsgeschehen sind die Zytokine IL-1, IL-6, IL-8, Interferon- γ , *transforming growth factor* β und TNF- α von besonderer pathobiochemischer Bedeutung (HILDEBRANDT, 1994; DARGEL et al., 1995; GANGUR et al., 2002). Zytokine besitzen sowohl parakrine als auch autokrine Eigenschaften (GRIMMINGER et al., 1997). Sie sind bereits in geringsten Konzentrationen (picomol) fähig, Veränderungen des Zellmetabolismus zu bewirken (DINARELLO, 1994). Zytokine induzieren über das zentrale Nervensystem, das Lymphsystem und den Blutkreislauf eine Vielzahl von systemischen Reaktionen. Diese umfassen unter anderem Fieber, gesteigerte Zellproliferation und -differenzierung im Knochenmark, Stoffwechselveränderungen in vielen Organen und eine Veränderung im Protein-Synthese-Profil der Leber (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). IL-6, IL-1 und TNF- α stimulieren die Freisetzung von adrenokortikotropem Hormon (ACTH) aus der Hypophyse, was zu einer gesteigerten Sekretion von Glukokortikoiden aus der Nebennierenrinde führt (HEINRICH et al., 1990). Um in vitro eine umfassende Veränderung der Proteinsynthese (hepatische APP) zu induzieren, müssen IL-6, IL-1, TNF- α und Glukokortikoide im Kulturmedium vorhanden sein (BAUMANN et al., 1988). Humane APP können anhand des Induktionsmediators in 2 Klassen unterteilt werden. Die Klasse 1 APP werden von IL-1 mit Unterstützung von IL-6 induziert, die Synthese der Klasse 2 APP wird nur durch IL-6 aktiviert. IL-1 hat keinen oder nur hemmenden Einfluss darauf (SCHUMANN und ZWEIGNER, 1999).

2.1.2.3.2.1 Tumor Nekrose Faktor- α und - β (TNF- α und - β)

Beim Menschen gilt TNF- α als einer der Hauptmediatoren der Sepsis (GRIMMINGER et al., 1997). TNF- α wird von Monozyten, Lymphozyten, natürlichen Killerzellen, glomerulären Mesangialzellen, Astrozyten, Mikrogliazellen und Makrophagen gebildet. Endotoxine, Viren, Pilze, parasitäre Antigene, Enterotoxine, Immunkomplexe und IL-1 regen die Synthese an. In Zellen von Leber, Lunge, Haut, Milz und Fettgewebe sind TNF- α Rezeptoren zu finden. Außerdem induziert TNF- α die Freisetzung einer Vielzahl von Mediatoren, unter anderem IL-1, IL-6, IL-8, Interferon- α , *platelet derived growth factor* und Prostaglandin-E₂. TNF- α verursacht einerseits zelluläre Reaktionen, die sich günstig auf die Zellproliferation und damit die Wundheilung auswirken, andererseits wirkt TNF- α zytotoxisch (DARGEL et al., 1995). TNF- α steigert die Adhärenz von PNG und unterstützt durch „Priming“ der Gefäßendothelzellen die Leukodiapedese (GRIMMINGER et al., 1997).

In vitro steigt die TNF Konzentration nach Inkubation von equinen Leukozyten mit Lipopolysaccharid innerhalb 1,5 Stunden an (SEETHANATHAN et al., 1990; HAWKINS et al., 1998). In den beiden genannten Veröffentlichungen wurde nicht zwischen TNF- α und - β unterschieden. Die intravenöse Applikation von Endotoxin verursacht bei Pferden einen signifikanten Anstieg der TNF- α Aktivität innerhalb einer Stunde im Blut (MACKAY et al., 1991; BARTON et al., 1997; BUENO et al., 1999). Nach extremer Belastung und bei degenerativen Gelenkerkrankungen ist TNF- α in der Synovialflüssigkeit signifikant erhöht (BILLINGHURST et al., 1995). Die Gabe eines TNF-Antikörpers neutralisiert fast vollständig die LPS induzierte TNF-Aktivität I. (CARGILE et al., 1995). Der TNF-Spiegel in Blut und Peritonealflüssigkeit ist bei an Kolik leidenden Pferden im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher (BARTON und COLLATOS, 1999).

Tumor Nekrose Faktor- β (TNF- β) bzw. Lymphotoxin ist ein zytotoxisches Zytokin, welches von aktivierten T-Lymphozyten synthetisiert wird. Die Bildung koloniestimulierender Faktoren (CSF) wird durch TNF- β ausgelöst (DARGEL et al., 1995).

2.1.2.3.2.2 *Transforming growth factor-β* (TGF-β)

Die Freisetzung von TGF-β aus Thrombozyten, Makrophagen und Keratinozyten sowie zahlreichen anderen Zellarten wird durch Steroide, Retinoide, epitheliale Wachstumsfaktoren, Nervenwachstumsfaktoren, Vitamin D₃ und IL-1 hervorgerufen. TGF-β wirkt sowohl immunstimulierend als auch immunsuppressiv. Die Aktivität von IL-1 wird durch TGF-β gehemmt (SCHARFFETTER-KOCHANNEK et al., 1995; DARGEL et al., 1995). TGF-β kommt eine wichtige Funktion während der Wundheilung zu. Es hat Einfluss auf PNG, Makrophagen und Fibroblasten. Es stimuliert die Synthese von Strukturproteinen, hemmt Matrix-Metalloproteinasen und kontrolliert andere Wachstumsfaktoren der Wundheilung (SCHARFFETTER-KOCHANNEK et al., 1995). Die Freisetzung von TGF-β wird durch eine Infektion mit equinem Herpes Virus-1 (EHV-1) induziert (CHESTERS et al., 2000).

2.1.2.3.2.3 Interferon-γ (IFN-γ)

IFN-γ ist ein pleiotrop wirksames Zytokin, welches die Regulation von Immun- und Entzündungsprozessen beeinflusst. IFN-γ wirkt als Schlüsselzytokin der zellvermittelten Immunität. Vor allem T-Lymphozyten produzieren das glykolyisierte Polypeptid IFN-γ. Stimuliert wird die Freisetzung vor allem durch Virusantigene. (DARGEL et al., 1995; GUTMANN et al., 2005).

2.1.2.3.2.4 Interleukin-1 (IL-1)

IL-1 ist auch unter dem Namen Leukozyten-Pyrogen, endogener Leukozyten-Mediator und Lymphozyten-aktivierender-Faktor bekannt. Bei Menschen und Kaninchen besitzt dieses Molekül ein Molekulargewicht von 13 kD (BORNSTEIN, 1982). Die Synthese von IL-1 in Monozyten wird durch das Komplementsystem, durch Anheftung an Oberflächen, die Blutgerinnung und Endotoxine aktiviert. Die Interleukin-1 Familie besteht aus Interleukin-1α (IL-1α), Interleukin-1β (IL-1β) sowie dem Interleukin-1 Rezeptorantagonisten (IL-1ra) (DINARELLO, 1994; KATO et al., 1997). IL-1α wirkt in der Zelle als autokriner Botenstoff (DINARELLO, 1994).

KATO et al. (1997) gelang es, den equinen IL-1ra zu isolieren und zu charakterisieren. In vitro hemmt equiner IL-1ra die zytostatischen und zytotoxischen Effekte von IL-1 (KATO et al., 1997).

IL-1 wird von den verschiedensten Zelltypen, unter anderem von Monozyten, Makrophagen, PNG, dendritischen Zellen, Langerhans Zellen, Astrozyten, Mikrogliazellen, Endothelzellen, Fibroblasten, Mesangialzellen, B-Lymphozyten und adulten T-Lymphozyten leukämischer Zelllinien produziert (KITAGAWA und SAITO, 1988). Das Zytokin IL-1 fungiert als chemotaktischer Botenstoff für PNG und Monozyten, wobei es die zytotoxische Aktivität der Monozyten verstärkt (SCHARFFETTER-KOCHANNEK et al., 1995). Durch die Sekretion von IL-1 werden auch Endothelzellen, Osteoblasten, T- und B-Zell-Lymphozyten, natürliche Killerzellen, Fibroblasten, Synovialzellen, Hepatozyten und Myozyten stimuliert (KITAGAWA und SAITO, 1988; GANGUR et al., 2002).

Laut DINARELLO (1994) unterdrückt IL-1 die Gentranskription von Albumin, Lipoproteinlipasen und Zytochromen, steigert aber die Expression verschiedener Zytokine. IL-1 induziert zusammen mit anderen Zytokinen aktivierter Makrophagen die hepatische APP-Synthese (BORNSTEIN, 1982; SLETTEN et al., 1989).

Bei Kaninchen induziert die Injektion von IL-1 folgende Symptome (BORNSTEIN, 1982):

- Fieber
- Granulozytose
- Stimulation der zirkulierenden PNG (gesteigerter oxidativer Metabolismus, Exozytose laktoferrin- und lysozymhaltiger Granula)
- Hyperferrinämie, Hypozinkämie
- Freisetzung von Glukagon
- Veränderung der Proteinsynthese in der Leber (Synthese von APP)
- Aktivierung von T-Lymphozyten

Während der Wundheilung verursacht IL-1 eine Fibroblastenproliferation und die Synthese von Matrix-Metalloproteinasen (SCHARFFETTER-KOCHANNEK et al., 1995). In vitro zeigen equine Leukozyten nach Stimulation mit Lipopolysaccharid innerhalb 3 Stunden eine dosisabhängige IL-1 Freisetzung (SEETHANATHAN et al., 1990). In entzündlichen Exsudaten ist innerhalb von 8 Stunden nach einem Trauma

ein IL-1-Anstieg zu verzeichnen, welcher nach 24 Stunden sein höchstes Niveau erreicht (MAY et al., 1991). Die Synthese von IL-1 und TNF- α wird durch Glukokortikoide und IL-6 inhibiert (TILG et al., 1997). Die *messenger* RNA (mRNA) von IL-1 und IL-6 wird im Bindegewebe frisch exstirpierter subchondraler Zysten beim Pferd gefunden, was für eine Aktivierung der Synthese spricht (VON RECHENBERG et al., 2001). Werden bei Arthritis, antigen-induzierter Histaminfreisetzung, autoimmunen Entzündungen des Gastro-Intestinaltraktes (*Inflammatory Bowel Disease*) und Kontaktdermatitiden geringe Mengen IL-1 verabreicht, sind die Symptome der Erkrankung geringer ausgeprägt. Während geringe Mengen IL-1 die APR begrenzen, können hohe Mengen IL-1 zu einer überschießenden APR führen (DINARELLO, 1994).

2.1.2.3.2.5 Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 ist neben IL-1, TNF- α und Interferon β_1 ein Vermittler zwischen der lokalen Entzündungsreaktion und der systemischen APR (HILDEBRANDT, 1994). Es stimuliert sowohl die humoralen wie auch die zellulären Abwehrmechanismen und ist als endogenes Pyrogen bekannt (HEINRICH et al., 1990). IL-6 ist ein pleiotropes Hormon bzw. Zytokin, welches unter anderem in die Regulation der Immunantwort, der APR, der Hämatopoese und der Hämostase eingreift (ANDUS et al., 1989; LEE et al., 1989; TILG et al., 1997; KERR et al., 2001). Indem IL-6 die G₀-Phase der hämatopoetischen Stammzellen verkürzt, stimuliert es die Proliferation dieser Zellen (HEINRICH et al., 1990). IL-6 war auch unter den Namen *hepatocyte-stimulating factor* (HSF), Interferon- β_2 (IFN β_2), *B-Cell stimulatory factor-2* (BSF-2), 26 kD Protein und *hybridoma plasmazytoma growth factor* (MGI-2A) bekannt, bis entdeckt wurde, dass es sich um das gleiche Molekül handelt (TOSATO und PIKE, 1989; HEINRICH et al., 1990). IL-6 wird in vitro von Monozyten, Makrophagen, T-Lymphozyten, PNG, Fibroblasten, Adipozyten, Keratozyten, Endothelzellen, Osteoklasten, Astrozyten und von Zellen des Hypophysenvorderlappens nach Inkubation mit Endotoxin oder TNF gebildet (KITAGAWA und SAITO, 1988; MORRIS et al., 1992b; KERR et al., 2001; BLAKE und RIDKER, 2002). IL-6 ist für die Aufrechterhaltung vieler Funktionen notwendig. Rezeptoren für IL-6 befinden sich unter anderem im Hypothalamus, in der Hypophyse, in der Leber, im Knochenmark und in den Zellen des Immunsystems (ANDUS et al., 1989). IL-6 wird nach Stimulation der produzierenden Zellen durch IL-1, TNF- α , TGF- β und LPS gebildet (DARGEL et al., 1995). Eine ausführliche Charakterisierung von IL-6 findet sich auch in der Dissertationsschrift

„Charakterisierung der Bedeutung von Interleukin-6 und Prostaglandinen bei der Fieberentstehung nach systemischer und lokaler Stimulation mit bakteriellem Lipopolysaccharid bei Meerschweinchen“ (RUMMEL, 2005).

Das equine IL-6 Molekül ähnelt dem anderer Spezies sehr (SWIDERSKI et al., 2000). SWIDERSKI et al. (2000) konnten durch Klonierung und Sequenzierung der equinen IL-6 *cellular* DNA (cDNA) zeigen, dass die für die Bioaktivität verantwortlichen Aminosäuresequenzen des menschlichen IL-6 auch in denen des Pferdes vertreten sind. Weiterhin können SWIDERSKI et al. (2000) nachweisen, dass das equine IL-6 in hohem Maße Gemeinsamkeiten mit dem IL-6 anderer Spezies aufweist (s. Abb. 6).

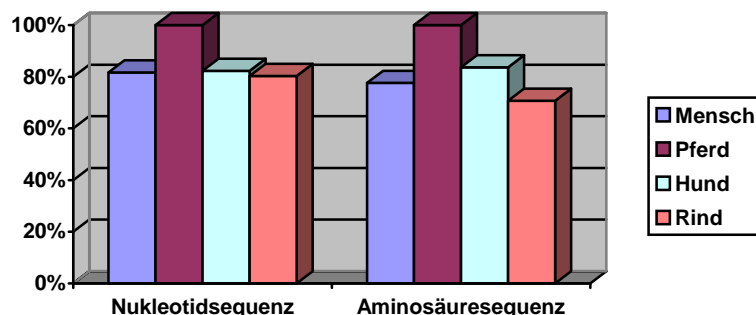


Abb. 6: Übereinstimmung der Nukleotid- bzw. der Aminosäuresequenz versch. Spezies in Prozent (modifiziert nach SWIDERSKI et al. 2000).

Die biologische Aktivität von humanem IL-6 wird durch zwei verschiedene Rezeptorbereiche vermittelt, welche beide im IL-6-Molekül des Pferdes vorhanden sind. Außerdem sind die dritten und vierten Cystein-Reste, welche für die maximale biologische Aktivität notwendig sind, vorhanden (SWIDERSKI et al., 2000).

Equine Peritonealmakrophagen produzieren in vitro endotoxinabhängig IL-6, wobei die Maximalaktivität 6 bis 12 Stunden nach Zugabe des Endotoxin auftritt (MORRIS et al., 1992a). In vitro lässt sich die IL-6-Sekretion LPS-stimulierter equiner Peritonealmakrophagen durch Inkubation der Zellen mit humanem Interleukin 10 (*hIL-10*) hemmen (HAWKINS et al., 1998).

Verabreicht man 2-3 Tage alten Fohlen Lipopolysaccharid parenteral, zeigt sich bereits nach 30 Minuten ein signifikanter IL-6 Anstieg im Serum (ROBINSON et al., 1993). Höchstwerte werden 90 Minuten nach der Applikation gemessen. Die IL-6

Freisetzung ist in diesem Versuch abhängig von der Versorgung mit Kolostrum (ROBINSON et al., 1993). Anstieg und Maximalwert des IL-6 sind in der Kolostrum-Gruppe deutlich höher als in Gruppe ohne Kolostrumaufnahme. Wird adulten Tieren eine geringe Dosis Endotoxin i.v. verabreicht, verursacht dies eine IL-6 Antwort innerhalb der 1. bis 8. Stunde nach Verabreichung (MORRIS et al., 1992b; BUENO et al., 1999). Nach ca. 18 bis 24 Stunden ist der Ausgangswert wieder erreicht. Wird Pferden eine 30-fach höhere Endotoxindosis parenteral appliziert, so ist eine Korrelation zwischen Endotoxinmenge und Plasma-IL-6-Konzentration zu erkennen (MACKAY und LESTER, 1992). Der Endotoxin bedingte Anstieg von IL-6 und TNF- α kann nicht durch die Gabe von Pentoxifyllin reduziert werden (BARTON et al., 1997; BASKETT et al., 1997). Pentoxifyllin hemmt bei Pferden dosisabhängig die IL-6 und TNF- α Aktivität in vitro aber nicht in vivo (BARTON und MOORE, 1994; BARTON et al., 1997).

Werden aus dem Knochenmark stammende Makrophagen mit *Equinem Infektiösem Anämie Virus* (EIAV) inkubiert, zeigt sich eine enge Verknüpfung zwischen Viruslast und IL-6 Produktion (SWARDSON et al., 1997). Interessanterweise hat die Infektion der Zellkultur keinen Einfluss auf die Produktion von TNF- α . Auch bei Infektion einer Pferdepopulation mit der Wyoming-Linie des EIAV zeigt sich, dass IL-6 post infectionem ansteigt und mit dem Verlauf der Virämie korreliert (SELLON et al., 1999).

Bei Pferden mit einer akuten Kolik ist eine erhöhte IL-6 Aktivität in Blut und Peritonealflüssigkeit positiv mit der Mortalität der untersuchten Tiere korreliert (BARTON und COLLATOS, 1999). Bei Pferden mit einer akuten abdominalen Erkrankung sind sowohl Endotoxin- als auch Zytokinkonzentrationen in der Peritonealflüssigkeit deutlich höher als im Blut. Dies entspricht weitgehend der Beobachtung, dass Lipopolysaccharid (LPS), TNF und IL-6 bei Pferden mit einer akuten Erkrankung der Bauchhöhle im Vergleich zu gesunden Individuen erhöht ist (STEVERINK et al., 1995).

2.1.2.3.2.6 Interleukin-8 (IL-8)

IL-8 ist ein niedermolekulares, nicht glykosyliertes Polypeptid, das aus 72 Aminosäuren besteht. Ein Synonym für IL-8 ist *neutrophil activating factor 1*. Eine große Zahl sehr unterschiedlicher Gewebezellen schüttet IL-8 nach Stimulation durch

IL-1, TNF- α oder LPS aus. Ein weiterer wichtiger Stimulus zur Synthese von IL-8 sind Immunkomplexe. Seine größte Bedeutung findet IL-8 als Mediator der Chemotaxis und Aktivierung von PNG (DARGEL et al., 1995; GANGUR et al., 2002). Indem es Integrine auf deren Oberfläche aktiviert, erleichtert IL-8 die Adhäsion und Diapedese von PNG an bzw. durch die Kapillarwände. Dies spielt z.B. eine große Rolle bei der Entstehung der *recurrent airway obstruction* (RAO). IL-8 stimuliert die Angiogenese, Hämatopoese, Organogenese und die Immunantwort (GANGUR et al., 2002).

2.1.2.4 Biogene Amine und Neuropeptide

Zu den biogenen Aminen zählen unter anderem Histamin und Serotonin. Die Gruppe der Neuropeptide umfasst eine ganze Reihe kleiner Transmittermoleküle, welche in Folge einer Entzündung für die gesteigerte Schmerzempfindlichkeit verantwortlich sind. Näher soll hier nur auf die Rolle des Histamins im Entzündungsgeschehen eingegangen werden.

Histamin ist als biogenes Amin in Pflanzen wie auch in tierischen Geweben zu finden. Es kommt in hohen Konzentrationen in Lunge, Haut und Gastrointestinaltrakt vor. Für das Entzündungsgeschehen sind aber vor allem die Histamin bildenden und speichernden Gewebemastzellen und basophilen Granulozyten interessant (BUDDECKE, 1994). Histamin wird durch die Dekarboxylierung von Histidin synthetisiert.

Als Stimulus zur Histaminfreisetzung dienen vor allem Antikörper der Klasse IgE, die Anaphylatoxine C3a und C5a sowie Endotoxin. Die Zytokine Interleukin-1, -3, -5 und -8 aktivieren ebenso die Freisetzung. Histaminrezeptoren sind in Gefäßen, im Verdauungstrakt, auf Nervenzellen, in Lungengewebe und auf Zellen des Immunsystems zu finden. Indem Histamin die Produktion von adrenokortikotropem Hormon (ACTH) stimuliert und über Histamin-Rezeptoren in der Leber die Synthese von APP beeinflusst, hat es neben seiner lokalen Wirkung auch Einfluss auf den Ablauf der systemischen APR (DARGEL et al., 1995).

2.1.2.5 Glukokortikoide

Glukokortikoide haben innerhalb der APP zwei Hauptwirkungsweisen. Einerseits verstärken sie die Effekte von TNF- α und IL-1, andererseits hemmen sie die

Synthese dieser Zytokine (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Glukokortikoide fungieren als Co-Faktoren der Zytokine. In vitro verstärken sie die Syntheserate einiger, aber nicht aller APP (KUSHNER et al., 1989; GAULDIE et al., 1989). Sie hemmen die Emigration von PNG sowie die Emigration und Funktion von phagozytisch aktiven Monozyten (HIGGINS und LEES, 1984). Außerdem können Glukokortikoide laut HIGGINS und LEES (1984) eine Vasokonstriktion erzeugen. Während die Glukokortikoide, in diesem Fall meist Dexamethason, in vitro die Wirkung der Zytokine in Hepatozyten unterstützen, hemmen sie die Freisetzung von IL-1 und IL-6 aus Monozyten (BAUMANN et al., 1989; CASTELL et al., 1989; FULLER und GRENETT, 1989; MORRIS et al., 1991). In vitro zeigen IL-1 und Dexamethason unterschiedliche Wirkung auf die Synthese verschiedener APP (BAUMANN et al., 1989). Die Hepatozyten aus Rattenlebern reagieren mit einer gesteigerten Synthese von z.B. Fibrinogen, wohingegen die Syntheserate von α_1 -Antitrypsin und Transferrin nach Applikation von IL-1 und Dexamethason sinkt. Bei gesunden Ratten erzeugt die Verabreichung von Dexamethason einen Anstieg von Haptoglobin und Albumin im Blut (LEWIS et al., 1998).

2.1.3 Akute Phase Proteine (APP)

Plasmaproteine, deren Konzentration sich bei akuten Entzündungen innerhalb von 24 bis 48 Stunden um mindestens 25 Prozent gegenüber dem Referenzbereich ändert, gelten als Akute Phase Proteine (APP) (KUSHNER, 1982). APP sind eine heterogene Gruppe von ungefähr 30 verschiedenen Plasmaproteinen mit unterschiedlichen molekularen und physiologischen Eigenschaften. Alle APP, die im Entzündungsfall einen Konzentrationsanstieg um 25 Prozent und mehr aufweisen, werden als positive Akute Phase Proteine bezeichnet. Im Gegensatz dazu werden alle Plasmaproteine, deren Serumkonzentration während der Entzündungsphase um 30 bis 60 Prozent sinkt unter dem Begriff der negativen APP zusammengefasst. Positive APP können anhand ihres Anstiegs nach Beginn der APR in drei Gruppen eingeteilt werden (KUSHNER, 1982). Es werden *minor* (-2 fache Erhöhung), *moderate* (2-10 fache Erhöhung) und *major* (10-1000 fache Erhöhung) APP unterschieden (MURATA et al., 2004). Die Funktion der APP ist in erster Linie als antiinflammatorisch bzw. entzündungshemmend zu bezeichnen (TILG et al., 1997; ROSSBACHER et al., 1999). APP haben vier grundlegende Wirkungsweisen (WANG et al., 2001):

- Hemmung extrazellulärer Proteinasen
- Neutralisierung und Beseitigung schädlicher Produkte der Entzündung, wie freies Hämoglobin, Häm, Metallionen und anderer freier Radikale
- Bereitstellung einer ausreichenden Menge von Proteinen der Gerinnung und Fibrinolyse
- Modulierung der zellulären Abwehr

Dadurch wird die Schädigung des Organismus begrenzt, infektiöse Keime werden eliminiert und entstandene Wunden zur Heilung gebracht (NEUMANN et al., 1995).

Die Synthese der APP findet hauptsächlich in der Leber statt, es sind aber auch extrahepatische Bildungsorte bekannt (JENSEN und WHITEHEAD, 1998; WANG et al., 2001). Die Aktivierung erfolgt in vivo durch das Zusammenspiel verschiedener Zytokine und Hormone, wobei letztere hauptsächlich aus der Hypophyse, der Nebennierenrinde und der Bauchspeicheldrüse stammen (KOJ, 1989; MILLS et al.,

1997). In Zellkulturen können insbesondere die vier Zytokine IL-6, IL-1, TNF- α und Interferon- γ die APR auslösen (KUSHNER et al., 1989).

APP sind speziesspezifisch (CASTELL et al., 1989; MURATA et al., 2004). Bei Kühen verändert sich z.B. die Konzentration von C-reaktivem Protein (CRP) nur unerheblich während einer Entzündungsreaktion (minor APP), wohingegen es beim Hund ein major APP ist (CONNER et al., 1988; ECKERSALL und CONNER, 1988). Haptoglobin, beim Menschen und bei Pferden ein moderates APP, zeigt bei Rindern einen 100- bis 1000-fachen Anstieg im Serum (major APP) (MURATA et al., 2004).

Im Allgemeinen sind APP (außer z.B. Fibrinogen) bei gesunden Tieren entweder gar nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen nachweisbar. Der Anstieg und die Dauer der Erhöhung sind von dem auslösenden Faktor abhängig. Einige APP (z.B. CRP) sinken sofort nach Entfernung des Störfaktors, während andere (z.B. Fibrinogen) erst nach Wochen wieder beim Ausgangswert angekommen sind (THOMAS, 2000a).

Auslöser einer systemischen APR ist z.B. die Induktion einer aseptischen Arthritis beim Pferd mit Amphotericin B, welche mit einem Konzentrationsanstieg von Serum-Amyloid-A (SAA), Haptoglobin, Fibrinogen und α_2 -Globulin einhergeht (HULTEN et al., 2002).

2.1.3.1 Serum-Amyloid-A (SAA)

Serum-Amyloid-A (SAA) ist ein charakteristisches und sensibles APP des Menschen und vieler anderer Spezies. Es steigt nach infektiösen und nicht infektiösen Entzündungen sowie Gewebetraumata im Serum von Menschen und Pferden um das 1000-fache seines Ausgangswertes an (SLETTEN et al., 1989; NUNOKAWA et al., 1993; JENSEN und WHITEHEAD, 1998). SAA tritt in hohen Konzentrationen bei Pferden auf, die der Antiserumgewinnung dienen. Diese erkranken oft an einer sekundären Amyloidose vom AA Typ, wobei SAA in Form von Fibrillen in verschiedenen Geweben eingelagert wird (HUSEBEKK et al., 1986).

Die Primärstruktur des equinen SAA. Die cDNA umfasst 480 Nukleotide und es können drei Isoformen des equinen SAA im Serum isoliert und charakterisiert werden (SLETTEN et al., 1989; HULTEN et al., 1997; MA et al., 2000). In der Synovia von

Pferden mit endotoxininduzierter Arthritis können noch zwei weitere, synoviaspezifische Isoformen nachgewiesen werden (JACOBSEN et al., 2005c).

SAA ist ein Apolipoprotein, welches im Plasma hauptsächlich konjugiert mit der High Density Lipoproteinfraktion 3 (HDL₃) vorliegt (BENDITT und ERIKSEN, 1977). Die Verbindung von SAA mit HDL₃ erleichtert die Aufnahme und Beseitigung von Cholesterin aus sterbenden Zellen durch Monozyten (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Freies SAA hat hemmenden Einfluss auf einige Aspekte der Immunantwort (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Darunter fallen Fieber, die PGE₂-Synthese, die Thrombozytenaktivierung, die Freisetzung von Sauerstoffradikalen (*oxidative burst*) und die Antikörperproduktion. Nicht mit HDL₃ assoziiertes SAA wirkt chemotaktisch auf Monozyten, PNG und T-Zellen (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Humanes SAA kann extrahepatisch von Makrophagen, Endothelzellen und glatten Muskelzellen synthetisiert werden (JENSEN und WHITEHEAD, 1998).

SAA ist kaum alters- oder geschlechtsabhängig, steigt aber im peripartalen Zeitraum deutlich an (NUNOKAWA et al., 1993; POLLOCK et al., 2005). Die SAA Konzentration ist bei Pferden mit klinischen Symptomen einer Entzündung deutlich erhöht (NUNOKAWA et al., 1993; POLLOCK et al., 2005). Aus den Ergebnissen der Untersuchungen kann geschlossen werden, dass SAA ein sensibles APP ist, welches die frühe Phase verschiedenster Entzündungen mit einem deutlichen Konzentrationsanstieg widerspiegelt (NUNOKAWA et al., 1993). Die SAA Konzentration korreliert sehr gut mit der CRP-Konzentration, wobei SAA früher und deutlicher ansteigt als CRP (NUNOKAWA et al., 1993).

SAA- und Fibrinogenkonzentrationen sind bei Fohlen mit nachgewiesenen bakteriellen Infektionen deutlich höher als bei Tieren, welche negative oder nicht eindeutige Blutkulturen haben (HULTEN und DEMMERS, 2002). Erkrankte Fohlen reagieren auf eine Therapie mit Antibiotika mit klinischer Besserung und abnehmenden SAA-Konzentrationen.

Nach Kastrationen und experimentell induzierten aseptischen Arthritiden kann ein SAA-Anstieg beobachtet werden, welcher am 2. Tag sein höchstes Niveau erreicht und am 15. Tag wieder auf das Ausgangsniveau sinkt (PEPYS et al., 1989; HULTEN et al., 1999b; HULTEN et al., 2002; POLLOCK et al., 2005; JACOBSEN et al., 2005a). Störungen der Wundheilung im postoperativen Verlauf nach Kastration zeichnen sich im Vergleich mit einem ungestörten Heilungsverlauf durch signifikant

höhere SAA-Werte aus (JACOBSEN et al., 2005a). Die Infektion mit equinem Influenza-Virus verursacht in den ersten 48 Stunden einen signifikanten Anstieg der SAA-Konzentration im Serum, welche in komplikationslosen Fällen innerhalb der folgenden 11 bis 22 Tage wieder in den Referenzbereich zurückkehrt (HULTEN et al., 1999a).

Zur Bestimmung von equinem SAA (siehe Tab.1) kommen mehrere ELISA zum Einsatz (SATOH et al., 1995; HULTEN et al., 1999b). PEPYS et al. (1989) setzen zur SAA-Diagnostik ein Elektroimmunoassay ein. Zur Bestimmung von SAA beim neonatalen Fohlen kommt ein immunoturbidimetrischer Latex-Agglutinations-Assay aus der Humanmedizin zum Einsatz (STONEHAM et al., 2001). Die Bestimmung von SAA mit diesem Testkit bei 79 gesunden Pferden ergibt im Mittel 4,5 µg/ml mit einer Standardabweichung von 11,4 4,5 µg/ml (VANDENPLAS et al., 2005). SATOH et al. (1995) bestimmen die Serumkonzentration von SAA bei klinisch unauffälligen Pferden, tragenden Stuten, Pferden mit experimentell induzierten Entzündungen und bei Pferden mit klinischen Symptomen einer Entzündung. Bei tragende Stuten ist SAA am 3. Tag post partum erhöht, bleibt über eine Woche hinweg auf diesem Niveau, um dann innerhalb von 2 Monaten wieder unter das obere Referenzlimit zu sinken (SATOH et al., 1995). Eine Allgemeinanästhesie (n=2) ohne chirurgischen Eingriff hat keine erkennbare Auswirkung auf die SAA-Konzentration im Plasma (PEPYS et al., 1989). Im Falle einer Entzündung ist ein SAA Anstieg bis zum 30-fachen des Ausgangswertes zu verzeichnen (PEPYS et al., 1989; NUNOKAWA et al., 1993).

Tab. 1: Nachweisverfahren zur Bestimmung von equinem SAA und Referenzbereiche gesunder Tiere. Angaben in Mittelwert und Standardabweichung

Autor	Testsystem	Rasse/Alter	Referenzwert $\bar{X} \pm$ SD
PEPYS et al. (1989)	Elektroimmunoassay	Vollblut >2J n=47	Bei gesunden Tieren nicht nachweisbar
NUNOKAWA et al. (1993)	Gel-Filtration mit Sephadex G-75	≤ 12 Monaten n=108	19,337 \pm 9,41 $\mu\text{g/l}$
		≥ 18 Monate n=97	21,53 \pm 9,81 $\mu\text{g/l}$
SATO et al. (1995)	ELISA	≤ 12 Monate n=102	21,23 \pm 12,2 $\mu\text{g/ml}$
		≥ 18 Monate n=93	14,93 \pm 9,07 $\mu\text{g/ml}$
HULTEN et al. (1999b)	Immunoassay mit polyklonalem anti equine Amyloid A Antikörper	Traber n=170	<7mg/l
STONEHAM et al. (2001)	Latex-Agglutination-Immunoassay (immunturbidimetrisch)	neonatale Fohlen (1.-3. Tag) n=226	1.Tag x=0,9 mg/l 2.Tag x=4,0 mg/l 3.Tag x=2,5 mg/l
Vandenplas et al. (2005)	Latex-Agglutination-Immunoassay (immunturbidimetrisch)	adulte Tiere (3 – 18 Jahre) n=79	4,5 \pm 11,4 $\mu\text{g/ml}$
POLLOCK et al. (2005)	ELISA (Tridelta Development Limited, Bry/Irland)	≤ 12 Monate n=11	0,15 \pm 0,05 $\mu\text{g/ml}$
		1-4 Jahre n=20	0,15 \pm 0,07 $\mu\text{g/ml}$
		> 4 Jahre n=17	0,09 \pm 0,06 $\mu\text{g/ml}$

2.1.3.2 Haptoglobin (Hp)

Haptoglobin (Hp) ist ein α_2 -Glycoprotein (TAIRA et al., 1992a). Die Bezeichnung leitet sich von dem griechischen Wort *haptain* (=anziehen, fangen) ab. Hp bindet freies Hämoglobin (Hb) (JAYLE und BOUSSIER, 1954). Die Hp-Konzentration im Serum ist bei Tieren mit hämolytischer Anämie oder ausgeprägten Hämatomen erniedrigt

(THOMAS, 2000a). Hp schützt unter anderem das Nierengewebe während einer Hämolyse, indem es die oxidative Wirkung des Hb durch Komplexbildung hemmt. Gleichzeitig reduziert es die glomeruläre Filtrationsrate und die Anhäufung des Hb in tubulären Endothelzellen durch Bildung von Makromolekülen (LIM, 2001). Hp steigt infolge eines Entzündungsgeschehens bei einer Vielzahl von Spezies (Katzen, Hunde, Pferde, Schweine, Rinder und Schafe) an (THOMAS, 2000a).

Humanes Hp vermindert die chemotaktische Aktivität von PNG, es setzt die Phagozytoseaktivität von PNG und Monozyten herab und hemmt die intrazelluläre Zerstörung von Bakterien (ROSSBACHER et al., 1999). Im Gegensatz dazu wirkt es im Komplex mit Hb als Opsonin bei der Aufnahme dieses Komplexes in Makrophagen (MADSEN et al., 2001; GRAVERSEN et al., 2002). Der Hp-Hb-Komplex und der in der Zellmembran von Makrophagen lokalisierte Hb-Rezeptor HbSR/CD163 sind Schlüsselmoleküle zur Vermittlung des Hämoglobinabbaus und der Regulation der APR (MADSEN et al., 2001; GRAVERSEN et al., 2002). HbSR/CD163 bindet Hp-Hb-Komplexe, welche dann in die Zelle aufgenommen werden und in Lysosomen abgebaut werden. Durch die Verknüpfung zweier HbSR/CD163-Rezeptoren wird die Sekretion von IL-6 und *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* induziert (GRAVERSEN et al., 2002).

Beim Menschen sind drei genetisch unterschiedliche Hp-Moleküle differenzierbar (SMITHIES et al., 1962). In der Gelelektrophorese trennte sich das Hp in Typ 1-1, Typ 2-1 und Typ 2-2 auf (SMITHIES et al., 1962). Beim Pferd gibt es im Gegensatz zum Menschen nur einen Phänotyp des Hp, welcher dem Typ 1-1 des humanen Hp gleicht (SCHWANTES et al., 1967). Humanes Hp 1-1 und equines Hp wandern in einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese bei einem pH-Wert von 8,3 in einer Bande (DOBRYSYCKA und KRAWCZYK, 1979; JOHNSON et al., 1983). Die isoelektrischen Punkte des humanen und equinen Hp unterscheiden sich (DOBRYSYCKA und KRAWCZYK, 1979). Equines Hp hat ein Molekulargewicht zwischen 105 kD und 108 kD, ermittelt mit einer SDS-PAGE-Analyse (TAIRA et al., 1992a). Das humane Molekül des 1-1-Typ ist aus zwei leichten α - und zwei schweren β -Untereinheiten aufgebaut (KRAWCZYK und DOBRYSYCKA, 1980; KATNIK et al., 1998). Es bestehen Ähnlichkeiten zwischen der Hp-Struktur und der Struktur von Antikörpern (SASAZUKI, 1971; COHEN-DIX et al., 1973).

Die Hp-Synthese findet hauptsächlich in der Leber statt und wird durch IL-6 induziert (WANG et al., 2001). Hp wird auch in der Lunge produziert, allerdings

speziesspezifisch in verschiedenen Zellen des Lungengewebes (YANG et al., 2000; YANG et al., 2001). In den adventitiellen Fibroblasten von Kaninchenarterien kann Hp-mRNA nachgewiesen werden (DE KLEIJN et al., 2002).

Zur Altersabhängigkeit der Hp-Werte gibt es unterschiedliche Angaben (ALLEN und ARCHER, 1971; HARVEY et al., 1984; POLLOCK et al., 2005). HARVEY et al. (1984) stellen keine Unterschiede zwischen Jungtieren und Adulten fest. Im Gegensatz dazu gibt GALLAGHER (Tridelta Development Limited, Bry/Irland) unterschiedliche Referenzwerte für Fohlen (<12 Mon.) und adulte Tiere (>18 Mon.) an (persönliche Mitteilung). Neben dieser Altersabhängigkeit scheinen die Referenzwerte für equines Hp auch in geringem Masse geschlechts- und gestationsabhängig zu sein (ALLEN und ARCHER, 1971; TAIRA et al., 1992a; POLLOCK et al., 2005). Es besteht zudem die Möglichkeit, dass Hp eine Rasseabhängigkeit zeigt (ALLEN und ARCHER, 1971). Ein Konzentrationsanstieg von Hp ist im peripartalen Zeitraum zu verzeichnen (TAIRA et al., 1992a). Bei fast allen Entzündungsformen, nach Kastrationen und nach einer Jejunojejunostomie kann ein Anstieg der Hp-Konzentration nachgewiesen werden (TAIRA et al., 1992a; POLLOCK et al., 2005).

Eine Infektion mit equinem Influenza Virus verursacht einen Hp-Anstieg, dessen höchstes Niveau zwischen dem 7. bis 10. Tag erreicht wird (KENT und GOODALL, 1991). Geschlechtsspezifische Unterschiede können von KENT und GODALL (1991) nicht beobachtet werden. Erhöhte Hp-Werte treten beim equinen *Grass Sickness Syndrom*, bei Infektion mit dem Darmparasiten *Strongylus vulgaris*, akuter Pododermatitis diffusa, nach einer diagnostischen Laparotomie und experimentell induzierter aseptischer Arthritis auf (JOHNSON et al., 1983; KENT, 1987; MILNE et al., 1991; EURELL et al., 1993; FAGLIARI et al., 1998; HULTEN et al., 2002). Hp liegt im Serum von Pferden mit iatrogen induzierter Hämolyse am 7. Tag post injektionem unter der Nachweisgrenze (MCGUIRE und HENSON, 1969). Sehr niedrige Hp-Werte werden bei Hyperlipidämie, Bilirubinämie und idiopathischer Anämie gemessen (ALLEN und ARCHER, 1971).

Bei Rindern induzieren sowohl virale als auch bakterielle Infektionen die APR, was durch den Anstieg der Hp-Konzentration gekennzeichnet ist (DEIGNAN et al., 2000; HEEGAARD et al., 2000). Eine ausführliche Übersicht über die Referenzwerte bei der Bestimmung von equinem Hp ist bei ROSCHER (2000) zu finden.

Tab. 2: Nachweisverfahren für equines Hp

Bestimmungsmethode	Prinzip
Hämoglobin-Bindungskapazität von Haptoglobin (ALLEN und ARCHER, 1971)	Das gewonnene Serum wird mit einer SephadexG-100-Säule getrennt, wobei sich auch das freie Hämoglobin von den Hp-Hb-Komplexen trennt. Das freie Hämoglobin wird dann quantitativ bestimmt.
Peroxidasemethode (OWEN et al., 1960)	Die Hp-Konzentration im Serum wird über die Peroxidaseaktivität des Hp-Hb-Komplexes bestimmt. Die Bildung des braunen Tetragujakols durch Oxidation von Gujakol wird photometrisch bestimmt.
Rivanolmethode (KORINEK, 1963)	Das Plasma wird mit einer bekannten Menge Hb versetzt, die Hp-Hb-Komplexe mit Rivanol gefällt und das im Plasma verbliebene Hb bestimmt.
Bestimmung mittels SephadexG-100 (RICHTER und WAGNER, 1974)	Diese Methode trennt die einzelnen Plasmabestandteile, welche dann mit einem Fraktionssammler aufgefangen werden. Der Hp-Gehalt wird mittels Extinktion bestimmt.
Elektrophoretische Trennung (MCGUIRE und HENSON, 1969)	Die Trennung der Serumbestandteile erfolgt durch anlegen einer Spannung an eine Elektrophoresekammer. Zur quantitativen Hp-Bestimmung kann z.B. das Verfahren von NYMANN (1959) eingesetzt werden.
Immunturbidimetrie (KENT und GOODALL, 1991)	Immunturbidimetrische Messung von Haptoglobin mit einem ovinen Antikörper gegen equines Haptoglobin

2.1.3.3 Fibrinogen

Fibrinogen ist ein Glykoprotein, welches Bestandteil der Gerinnungskaskade ist. Es wird durch das Enzym Thrombin in Fibrin umgewandelt. Equines Fibrinogen besitzt die Eigenschaft, Ferritin zu binden (ORINO et al., 1993). Hauptsyntheseort ist die Leber. Beim Menschen wird Fibrinogen in Epithelzellen der Lunge synthetisiert (NGUYEN et al., 2000). Abbaufragmente von Fibrinogen und Fibrin induzieren die Fibrinogensynthese, indem sie Monozyten zur Sekretion von IL-6 stimulieren

(FULLER und RITCHIE, 1982). Die Beurteilung einer Hyperfibrinogenämie wird durch Bildung eines Quotienten unterstützt.

$$Q = \frac{\text{Gesamteiweiß (in g/l)} - \text{Fibrinogen (in g/l)}}{\text{Fibrinogen (in g/l)}}$$

Werte von $Q \geq 15$ sprechen für eine Dehydratation, Werte von $Q \leq 10$ für eine selektive Erhöhung des Fibrinogens und damit für entzündliche Vorgänge. Werte zwischen 10 und 15 deuten auf eine mögliche Entzündung hin (JAIN, 1986b). Die Fibrinogenkonzentration im Pferdeplasma kann auf verschiedene Weisen determiniert werden. Zum Einen wird, z.B. mit der Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) oder der Proteingerinnungsmethode nach RATNOFF und MENZIE (1951), nur das hämostatisch aktive Fibrinogen gemessen. Heparin, Abbauprodukte des Fibrins und Dysfibrinogenämien können das Ergebnis beeinflussen (HOEGEE-DE NOBEL et al., 1988; MISCHKE et al., 2000). Eine andere Möglichkeit ist die Messung aller Fibrinogenmoleküle, unter Vernachlässigung ihrer Funktionstüchtigkeit, durch Hitzepräzipitation nach MILLAR et al. (1971) oder SCHALM et al. (1970).

Beim Pferd steigt die Fibrinogenkonzentration im Plasma 2 Tage nach einem Stimulus an, um dann am 6.Tag die Höchstwerte zu erreichen (ALLEN und KOLD, 1988). Während einer Trächtigkeit steigt die Fibrinogenkonzentration vom 4. Monat präpartal bis 36 Stunden post partum stetig an. Einen Monat post partum sinken die Werte wieder auf das Ausgangsniveau (GENTRY et al., 1992). Das Referenzintervall für Fibrinogen ist beim Pferd nicht altersabhängig (JAIN, 1986b). Die experimentelle Induktion einer chronischen Weichteilentzündung durch dreimalige Injektion von Freundschem Adjuvants führt zu einem Fibrinogenanstieg innerhalb der ersten 48 Stunden um das zwei- bis dreifache (AUER et al., 1989; MILLS et al., 1997). Im Vergleich der Fibrinogenwerte von Tieren mit Frakturen der distalen Gliedmaßen und Tieren mit Abszessen oder tiefen, nicht eiternden Wunden ist zu erkennen, dass besonders Weichteilerkrankungen zu einer Erhöhung der Fibrinogenkonzentration führen (CAMPBELL et al., 1981). Bei den Tieren mit Frakturen bewegen sich die Fibrinogenwerte an der oberen Grenze des Referenzbereiches (CAMPBELL et al.,

1981). Fibrinogen steigt in Folge einer Infektion mit *Ehrlichia risticii* deutlich an und ist bei nicht überlebenden Tieren in höheren Konzentrationen im Plasma vertreten als bei überlebenden Tieren (MORRIS et al., 1988). Fibrinogen ist bei Pferden mit Koliksymptomen im Plasma eindeutig erhöht (TOPPER und PRASSE, 1998). Ebenso befinden sich die Fibrinogenwerte bei Pferden mit akuter Hufrehe, Endotoxämie, experimentell induzierter aseptischer Arthritis, chronischen Entzündungen, verschiedenen Weichteiloperationen und nach Kolikoperationen über dem oberen Referenzwert (MILLS et al., 1997; BARTON et al., 1997; FAGLIARI et al., 1998; HULTEN et al., 2002; FEIGE et al., 2003; POLLOCK et al., 2005). Nach Operationen steigt die Fibrinogenkonzentration innerhalb von 2 Tagen um das zwei- bis dreifache an (ALLEN und KOLD, 1988; FEIGE et al., 2003; JACOBSEN et al., 2005a). Dabei sind die Fibrinogenwerte nach Kastrationen mit Wundheilungstörungen am 8. Tag p OP signifikant höher als nach Kastrationen mit ungestörter Wundheilung (JACOBSEN et al., 2005a).

2.1.3.4 C-reaktives-Protein (CRP)

C-reaktives-Protein erscheint beim Menschen im Serum in Folge vieler verschiedener Entzündungsformen. Den Namen hat das CRP durch seine Fähigkeit erhalten, in vitro mit dem C-Kohlenhydrat der Polysaccharidkapsel von Pneumokokken zu reagieren (LÖFFLER und PETRIDES, 1998). Diese Bindung ist Ca^{2+} -abhängig (GOTSCHLICH, 1989). Auch ischämische Veränderungen des Gewebes, maligne Neoplasien, mechanische Verletzungen wie Frakturen, Operationen oder Verbrennungen sowie viele Infektionserkrankungen sind beim Menschen mit einem erhöhten CRP-Spiegel kombiniert (KAPLAN, 1982).

Das equine C-reaktive Protein (CRP) ist ein Pentamer, welches aus 5 identischen, nicht glykosylierten, nicht kovalent gebundenen Proteinuntereinheiten besteht (TAKIGUCHI et al., 1990). Es gehört zu den β -Globulinen (LÖFFLER und PETRIDES, 1998). Equines CRP wandert in der Immunelektrophorese in der Region zwischen β - und γ -Globulinen (TAKIGUCHI et al., 1990). Es kommt im Blut der meisten Säugetiere vor und wurde während der Evolution sehr gut biologisch konserviert (BALLOU und KUSHNER, 1992). CRP wirkt als Opsonin für bakterielle Infektionen und bindet Ca^{2+} und Phosphocholin (SZALAI et al., 1999). Die CRP-Synthese beim Menschen wird hauptsächlich durch IL-6 induziert (BALLOU und KUSHNER, 1992). Andere Zytokine wie IL-1, TNF- α , *Transforming Growth Factor* β -

1, Interferon- γ und auch Kortikosteroide haben einen Einfluss auf die Induktion (BALLOU und KUSHNER, 1992). GOTSCHLICH (1989) fasst die Funktion des humanen CRP innerhalb der APR zusammen. Neben der opsonierenden Wirkung von CRP nennt er auch die Rolle des CRP als Regulator von Effektorzellen, z.B. PNG, Lymphozyten, Monozyten und Thrombozyten (BALLOU und KUSHNER, 1992). Das Molekulargewicht des equinen und des humanen CRP liegt bei 118 kD, die Aminosäuresequenzen ähneln sich ebenfalls (TAKIGUCHI et al., 1990). CRP zeigt bei Menschen, Affen und Kaninchen während einer APR extreme Konzentrationsanstiege, wohingegen es bei Rindern während einer APR nicht ansteigt (ECKERSALL und CONNER, 1988; MURATA et al., 2004).

Equines CRP ist alters- und geschlechtsabhängig (YAMASHITA et al., 1991). In der perinatalen Periode sind deutliche Konzentrationsschwankungen zu beobachten. CRP ist laut YAMASHITA et al. (1991) ein APP des Pferdes, welches 24 Stunden nach einem Stimulus im Serum zunimmt und seine Höchstkonzentration 3 bis 5 Tage später erreicht. Die Serumkonzentration steigt nach Induktion einer sterilen Entzündung um das 3- bis 6-fache (YAMASHITA et al., 1991). Laut YAMASHITA et al. (1991) konnten erhöhte Werte nach Injektion von Terpentin, Kastrationen, einer Jejunojejunostomie, Fohlen-Enteritis und –Pneumonie und bei Pneumonien adulter Tiere festgestellt werden. CRP ist ein APP bei der akuten Form der Hufrehe und steigt bei Infektionen und chirurgischen Eingriffen um das 2 bis 6 fache innerhalb von 2 bis 4 Tagen an (TAKIGUCHI et al., 1990; FAGLIARI et al., 1998).

2.1.3.5 Coeruloplasmin

Coeruloplasmin ist ein Kupfertransportmolekül, welches eine hohe Oxidaseaktivität besitzt, wobei Substrate besonders Eisenionen und zahlreiche aromatische Amine und Phenole sind. Unter anderem dient Coeruloplasmin auch als intravasale Superoxiddismutase und ist somit ein Fänger von freien Radikalen (GOLDSTEIN et al., 1982; REILLY und AUST, 1997; REILLY et al., 1998).

Die Referenzwerte für Pferde liegen zwischen 11,6 und 35,8 U/L (n=52). Es konnte eine Korrelation zwischen dem Coeruloplasmingehalt und der Kupferkonzentration des Blutes festgestellt werden (SMITH et al., 1983). Coeruloplasmin wurde aus Pferdeplasma isoliert und sowohl qualitativ und als auch quantitativ untersucht (OKUMURA et al., 1991). Das Glykoprotein Coeruloplasmin hat demzufolge ein

Molekulargewicht von 115 kD, wandert in der Gelelektrophorese mit der α_1 -Globulinfraktion und besteht aus ca. 890 Aminosäuren. Die Referenzwerte sind laut OKUMURA et al. (1991) beim adulten Pferd $6,06 \pm 0,74$ mg/ml. Der Coeruloplasminspiegel steigt in der Intermediär- bis Spätphase der Entzündung (OKUMURA et al., 1991). Nach experimenteller Induktion einer Weichteilentzündung kommt es am 5. bzw. 6. Tag zum signifikanten Anstieg der Coeruloplasminkonzentration (AUER et al., 1989; OKUMURA et al., 1991). Bei akuter Hufrehe ist Coeruloplasmin ebenfalls erhöht (FAGLIARI et al., 1998).

2.1.3.6 α_1 -saures Glykoprotein (Oromukoid)

α_1 -saures Glykoprotein gehört zu den α_1 -Globulinen. Es ist ein APP des Pferdes, welches bei Infektionen, Entzündungen, malignen Tumoren, nach Operationen (Kastrationen) und Geburten im Serum ansteigt (TAIRA et al., 1992b). Das α_1 -saure Glykoprotein hemmt die Blastogenese der Lymphozyten und die Antikörperproduktion. Die Freisetzung wird durch Entzündungen, Verletzungen, Endotoxin und Injektion von rekombinantem Interleukin-1 (IL-1) stimuliert (THOMAS, 2000a).

TAIRA et al. (1992b) konnten auch eine signifikante Konzentrationserhöhung des α_1 -sauren Glykoproteins bei 3 Fohlen mit Erkrankungen des Skelettes (Osteomyelitis, Entzündung des Hufbeins und ein Osteom der Patella) feststellen. Das *Grass Sickness Syndrome* verursacht einen Anstieg der Konzentration von α_1 -saurem Glykoprotein ebenso wie akute Hufrehe (MILNE et al., 1991; FAGLIARI et al., 1998).

2.1.3.7 α_2 -Makroglobulin

α_2 -Makroglobulin gehört zu den Glykoproteinen und wandert in der Gelelektrophorese mit der α -Globulinfraktion. In Hepatozyten-Zellkulturen von Ratten induziert IL-6 die Synthese von α_2 -Makroglobulin. Dabei kommt es zu einem 54-fachen Konzentrationsanstieg. Der Zusatz von IL-1 verstärkt diesen Effekt (ANDUS et al., 1988). Nach Injektion von Terpentin bzw. Laparotomie bei Ratten ist ein deutlicher Anstieg der Serumkonzentration nachweisbar, wobei geringfügige geschlechtsspezifische Unterschiede vorhanden sind (OKUBO et al., 1981).

Das Protein α_2 -Makroglobulin wird hauptsächlich in der Leber synthetisiert. WINDER et al. (1989) konnten α_2 -Makroglobulin in histologischen Präparaten gesunder Lebern und in Lungenpräparaten von Pferden, welche an einer Erkrankung der unteren Atemwege litten, nachweisen. In der Lunge wird α_2 -Makroglobulin vermutlich in Alveolarmakrophagen produziert (WINDER et al., 1989). Das Molekulargewicht des equinen α_2 -Makroglobulin beträgt 720 kD (PELLEGRINI et al., 1983). PELLEGRINI et al. (1983) konnten eine Kreuzreaktion zwischen equinem α_2 -Makroglobulin und humanen anti- α_2 -Makroglobulin-Antikörpern nachweisen. α_2 -Makroglobulin ist ein universeller Inhibitor nahezu aller Proteinasen, es reagiert mit diesen im Verhältnis 1:2 (DUBIN et al., 1984). Gebunden werden Serine, Metalloproteinasen, Plasma-Kallikrein, Kathepsin G, Trypsin, Chymotrypsin, Proteinase K und die Elastase PNG (BARRETT und STARKEY, 1973; PELLEGRINI et al., 1983; SALVESEN et al., 1983). Die Produktion von Sauerstoffradikalen durch PNG und Makrophagen wird durch α_2 -Makroglobulin inhibiert (TILG et al., 1997). Gereinigtes equines α_2 -Makroglobulin hemmt die Anheftung humaner Influenzaviren an Zellen (PRITCHETT und PAULSON, 1989). Da α_2 -Makroglobulin IL-1, IL-6 und *transforming growth factor* β bindet, hemmt es auch die Aktivität dieser Botenstoffe (DARGEL, 1995b). Es wird vermutet, dass α_2 -Makroglobulin das Tumorwachstum bei Menschen und Mäusen inhibiert (KOO, 1983).

Die α_2 -Makroglobulinkonzentration ist erhöht bei der akuten Form des *Grass Sickness Syndrome* (MILNE et al., 1991).

2.1.3.8 Serin-Proteinase Inhibitoren/Serpine

Zur Superfamilie¹ der humanen Serin-Proteinase Inhibitoren (Serpine) gehören α_1 -Antitrypsin, α_1 -Antichymotrypsin, α_1 -Proteinase Inhibitor, α_2 -Antiplasmin, Inhibitor von C1 und Angiotensinogen (ERIKSSON et al., 1988; SALVESEN und ENGHILD, 1993). Der Ausdruck Serpin ist abgeleitet von Serin Proteinase Inhibitor (SALVESEN und ENGHILD, 1993). Hauptsächlich regulieren diese Proteine beim Menschen die Gerinnung, die Fibrinolyse und die Proteinasen der PNG.

¹ Definition Superfamilie: In einer Superfamilie werden Proteine zusammengefasst, die vom gleichen „Urgen“ abstammen. Üblicherweise umfasst dies Proteine mit einer Übereinstimmung von mehr als 30% (PERLMUTTER, 1993).

Im Verlauf der humanen APR reagieren α_1 -Proteinase-Inhibitor und α_1 -Antichymotrypsin als positive APP. Sie vermindern den negativen Einfluss verschiedener, im Verlauf der Entzündung freigesetzter, Proteinasen (SALVESEN und ENGHILD, 1993). Als Urtyp α_1 -Antitrypsin gilt der Serpine. Hauptsächlich wirkt es als Inhibitor der Elastase der PNG in humanem Serum. Im gesunden Organismus bilden Elastase und α_1 -Antitrypsin ein Gleichgewicht. Während eines Entzündungsgeschehens verhindert α_1 -Antitrypsin die Zerstörung umliegenden Gewebes (PERLMUTTER, 1993).

2.1.3.9 Ferritin

Das Ferritinmolekül besteht aus Polypeptid-Ketten, in deren Zentrum ein Eisenspeicherkern liegt. Die Ferritinmoleküle verschiedener Spezies haben trotz großer Unterschiede in der Aminosäuresequenz die gleiche Molekülstruktur. Ferritin besitzt die Fähigkeit Fe (II) durch Oxidation in Fe (III) zu überführen und dieses zu speichern. Ferritin stellt das intrazelluläre Eisenspeichermolekül dar, während Transferrin (s. a. Kap. 2.1.3.13) im extrazellulären Raum den Transport übernimmt (HARRISON und AROSIO, 1996). Ferritin mRNA wird bei der Differenzierung von Zellen vermehrt gebildet. Darunter fallen unter anderem die Differenzierung humaner Promyelozyten zu PNG und Makrophagen, die Entwicklung von Vorläuferzellen zu Adipozyten bei der Maus und in vitro die Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen (HARRISON und AROSIO, 1996).

Die Anwesenheit von Ferritin in vitro steigert die Ferrooxidaseaktivität von Coeruloplasmin signifikant (REILLY und AUST, 1997; REILLY et al., 1998). Sowohl Ferritin, als auch das eisenfreie Apoferritin besitzen die Fähigkeit, die Synthese von Sauerstoffradikalen durch humane PNG zu stimulieren (BRAILSFORD et al., 1985).

Die Serumkonzentration von Ferritin bei Pferden steigt nach Injektion von Terpentin, entzündlichen Erkrankungen und Verletzungen (THOMAS, 2000a). Die Ferritinkonzentration im Blut von Pferden wird durch Injektion von Kortikosteroiden nicht beeinflusst (THOMAS, 2000a).

2.1.3.10 Prokalzitonin (PCT)

Prokalzitonin (PCT) ist das Propeptid von Kalzitonin. Es wird seit 1993 zur Bestätigung und Verlaufsbeobachtung bakterieller Infektionen beim Menschen eingesetzt. Hauptstimulus der PCT-Freisetzung sind bakterielle Endo- und Exotoxine, aber auch Entzündungsmediatoren wie Zytokine und operative Traumata stimulieren die Freisetzung (BRUNKHORST et al., 2002; MOLTER et al., 2003). Neuere Untersuchungen deuten darauf hin, dass PCT kein ausschließlicher Sepsismarker ist. Vielmehr korreliert PCT beim Menschen mit dem Schweregrad der Erkrankung und zeigt dynamisch den Therapieerfolg an (KUNZ und KOHSE, 2002).

Die Kombination von CRP und PCT kann beim Menschen zur Differenzierung einer normalen APR in Folge eines operativen Eingriffs und einer post operativen systemischen Infektion eingesetzt werden (ROTHENBURGER et al., 1999).

2.1.3.11 Lipopolysaccharidbindendes Protein (LBP)

Lipopolysaccharidbindendes Protein (LBP) bindet an die Lipid A-Untereinheit des Lipopolysaccharids (LPS) (GIGUERE und PRESCOTT, 2000). Es ähnelt in seiner Aminosäuresequenz anderen Proteinen, die LPS binden und in PNG sowie Cholesterin-Ester-Transportproteinen gefunden werden (SCHUMANN et al., 1990). Weiterhin fungiert LBP als Transportmolekül für LPS und kontrolliert dadurch die Monozytenaktivierung (SCHUMANN et al., 1990). WRIGHT et al. (1990) weisen nach, dass der LBP-LPS-Komplex an den CD14-Rezeptor von Monozyten bindet. Dies induziert dann laut SCHROEDL et al. (2001) die Freisetzung von Entzündungsmediatoren.

Lipopolysaccharidbindendes Protein (LBP) steigt im Serum in Folge eines Traumas, des „*Systemic inflammatory response Syndrome*“ (SIRS) und Sepsis (SCHUMANN und ZWEIGNER, 1999).

LBP ist ein Marker der APR bei Rindern (SCHROEDL et al., 2001). Die LBP-Konzentration ist bei Kälbern, welche mit *Mannheimia haemolytica* experimentell infiziert werden, im Vergleich zum Nullwert signifikant erhöht. Der LBP-Anstieg kann 6 Stunden vor der Hp-Konzentrationserhöhung festgestellt werden. SCHROEDL et al. (2001) beschreiben auch das Phänomen, dass Kälber, die nicht überleben, deutlich höhere LBP-Spiegel aufweisen als überlebende Kälber. Bei 79 gesunden

Pferden konnte eine mittlere LPB-Serumkonzentration von 4,1 µg/ml mit einer Standardabweichung von 2,3 µg/ml bestimmt werden (VANDENPLAS et al., 2005). Die Bestimmung von LPB bei Pferden mit abdominalem Schmerz (Kolik) ergibt keinen signifikanten Unterschied der Serumkonzentration beim Vergleich zwischen überlebenden und nicht überlebenden Tieren (VANDENPLAS et al., 2005).

2.1.3.12 Albumin

Das Plasmaprotein Albumin versorgt das Gewebe mit Aminosäuren, reguliert den kolloid-osmotischen Druck und bindet sowie transportiert eine Vielzahl von Molekülen und Ionen (LÖFFLER und PETRIDES, 1998). Die Albuminkonzentration steigt mit zunehmender Dehydratation. Eine Hypoalbuminämie muss in Verbindung zum Globulingehalt gesehen werden. Eine Verringerung der Albuminkonzentration in Kombination mit normalen oder erhöhten Globulinspiegeln ist ein Hinweis auf einen selektiven Verlust von Albumin (bei z.B. nephrotischem Syndrom, Glomerulonephritis, Vaskulopathien oder Ergüssen in die großen Körperhöhlen) oder eine verminderte Synthese durch z.B. Leberinsuffizienz, Malnutrition, Maldigestion, Malabsorption oder während einer APR (THOMAS, 2000b).

Die Albuminkonzentration im Blut gesunder und kranker Tiere ist negativ mit dem Fibrinogengehalt korreliert (ALLEN und BLACKMORE, 1984). Die Albuminkonzentration sinkt nach Operationen und experimentell induzierten Weichteilentzündungen signifikant, was die Schlussfolgerung zulässt, dass Albumin beim Pferd ein negatives APP ist (ALLEN und KOLD, 1988; PATTERSON et al., 1988; AUER et al., 1989).

2.1.3.13 Transferrin

Transferrine sind eine Reihe homologer, glykolysierter metallbindender Proteine, welche einerseits Eisen in die Zellen transportieren und andererseits bakteriostatische Eigenschaften besitzen (PENHALLOW et al., 1991). Transferrin dient der Versorgung von Geweben mit Eisen, indem es Eisen aus dem Retikuloendothelialen-System, aus parenchymalen Geweben und aus den Schleimhautzellen des Darmes aufnimmt und in das Knochenmark und andere eisenabhängige Gewebe transportiert (HARRISON und AROSIO, 1996). Humanes

eisenfreies Transferrin kann Endotoxin binden, wobei die Toxizität des Endotoxins verstärkt wird (BERGER et al., 1990).

Die verschiedenen Isoformen equinen Transferrins zeigen in der SDS-PAGE ein Gewicht zwischen 69 kD und 80 kD (PENHALLOW et al., 1991).

2.2 Diagnostischer Einsatz Akuter Phase Proteine beim Pferd

Akute Phase Proteine haben in der Entzündungsdiagnostik beim Pferd mit Ausnahme des Fibrinogens bisher noch einen niedrigen Stellenwert. Ein schon praktizierter Ansatz liegt in der Bestandsbetreuung großer Gestüte und in der Leistungskontrolle von Rennpferden. So kann die Bestimmung von SAA beispielsweise zur Überwachung der Herdengesundheit eingesetzt werden (STONEHAM et al., 2001). Auch Haptoglobin erwies sich als zuverlässiger Parameter bei der Gesundheitskontrolle (KENT und GOODALL, 1991).

2.3 Akute Phase Proteine in der klinischen Anwendung

Die Bestimmung von Akute Phase Proteinen in der Humanmedizin, insbesondere von CRP ist bereits seit Jahrzehnten etabliert. Die diagnostische Bandbreite erstreckt sich von der Sepsisdiagnostik bei Neonaten über die Stellung einer Prognose bis zur Kontrolle des Heilungsverlaufes. Erhöhte APP-Werte bei Krebspatienten sind beispielsweise Hinweise auf eine schlechte Prognose bzw. fortschreitende Metastasierung (COOPER, 1988).

Interleukin-6 und der *tissue factor* (Aktivator der Gerinnungskaskade) sind Blutparameter, welche bei kongestiver Herzinsuffizienz als prognostische Parameter eingesetzt werden können (CHIN et al., 2003). Sind diese Werte erhöht, kann dies eine ungünstige Prognose bezüglich Thrombose- und Schlaganfallgefahr anzeigen. Bei der Diagnose einer Appendizitis ist IL-6 nur in der Spätphase oder bei perforiertem Appendix ein verlässlicher Parameter (GURLEYIK et al., 2002). Zytokine im Allgemeinen finden vermehrt Einsatz in der Sepsisdiagnostik beim Frühgeborenen (BERNER et al., 1998; KRUEGER et al., 2001). Bakterielle Infektionen können beim Neonaten auch mit der Bestimmung von CRP und LBP nachgewiesen werden (BERNER et al., 1998; BERNER et al., 2002). Dies kann laut den Autoren zur Früherkennung und Therapie der Erkrankungen genutzt werden. Prokalzitonin ist ein

Sepsismarker bei Erwachsenen und Kindern (FRANZ et al., 1999a; KUNZ und KOHSE, 2002). FRANZ et al. (1999) berichten über den Einsatz der IL-8 Bestimmung. Anhand dieser kann der Einsatz von Antibiotika auf ein Mindestmaß beschränkt werden (FRANZ et al., 1999b). KUNZ und KOHSE (2002) betrachten IL-6, IL-8 und PCT als sinnvolle Parameter zur Ergänzung der pädiatrischen Entzündungsdiagnostik. Dabei sollen IL-6 und IL-8 zur Frühdiagnostik und PCT und CRP zur Verlaufskontrolle eingesetzt werden. Die Präventivbestimmung von IL-1ra und IL-6 ermöglicht bei Kindern mit sehr niedrigem Geburtsgewicht eine Sepsisfrühdiagnostik. Bei zwei von drei Kindern kann die Diagnose 1 bis 2 Tage vor den klinischen Anzeichen erkannt werden (KÜSTER et al., 1998).

Die Kombination von CRP und IL-6 kann als Erweiterung der diagnostischen Palette bei der Erkennung der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit dienen (VOLKEL et al., 2001). Seit den 90er Jahren häufen sich die Untersuchungen zu CRP bei Koronarerkrankungen des Herzens (BLAKE und RIDKER, 2002). So gilt ein erhöhter CPR-Grundspiegel bei scheinbar gesunden Menschen als Hinweis auf kardiovaskuläre Störungen, Schlaganfälle und Erkrankungen des peripheren Gefäßsystems (LIUZZO et al., 1994; BLAKE und RIDKER, 2002). CRP kann zur Nachsorge bei Lebertransplantationen eingesetzt werden und zeigt dann unspezifisch Abstoßungsreaktionen oder bakterielle Infektionen an (THEIR et al., 2002). Hohe CRP-Spiegel zu Beginn der Schwangerschaft verdoppeln die Gefahr einer Frühgeburt (HVILSOM et al., 2002).

2.4 Hintergrund und Fragestellung der wissenschaftlichen Arbeit

Die klinische Untersuchung, die Bestimmung von Gesamtleukozytenzahl und Differenzialblutbild haben nur eine geringe Aussagekraft bei der Beurteilung von Entzündungen bei Pferden nach Standardeingriffen. Das weiße Blutbild unterliegt beim Pferd nur geringen Schwankungen (JAIN, 1986d). Bei minimalinvasiven Eingriffen stößt auch die klinische Untersuchung mit Adspektion der Wunde an ihre Grenzen, da nur die Hautwunde beurteilt werden kann. Wohingegen die Beurteilung von Gelenken und anderen Körperhöhlen (Thorax, Abdomen) nur unter größerem Aufwand (Verbandwechsel, Röntgen, Sonographie) möglich ist.

Diese Arbeit soll als Grundlage für die klinische Anwendung experimentell erforschter Akute Phase Proteine (APP) beim Pferd dienen. Die Bandbreite der diagnostischen Möglichkeiten in der Humanmedizin ist bei Akute Phase Proteinen sehr groß. Sie reicht von der Diagnostik über das Monitoring bis hin zu prognostischen Aussagen. Auf dieser Grundlage sollten folgenden Fragen beantwortet werden:

Kommt es nach verschiedenen chirurgischen Eingriffen zur Induktion einer systemischen Akute Phase Reaktion?

Wie verläuft diese?

Eignen sich Akute Phase Proteine als diagnostische Parameter nach chirurgischen Eingriffen?

Ist die Akute Phase Reaktion abhängig von der Art des Eingriffes?

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Probengewinnung

3.1.1.1 Entnahmeprotokoll und klinische Untersuchung

Alle in die Studie aufgenommenen Tiere wurden unmittelbar vor dem Eingriff und 6, 12, 24, 48, 72, wenn möglich auch 7 Tage nach der Operation klinisch untersucht und es wurde eine Blutprobe gewonnen. Zum Zeitpunkt der Probenentnahme wurde bei allen Tieren eine allgemeine Untersuchung durchgeführt. Die Herzfrequenz pro Minute wurde mittels eines Stethoskops im Bereich der linken Regio cubiti auskultiert. Die Atemfrequenz pro Minute wurde anhand der Bewegung des Brustkorbes und der Flanke ausgezählt. Die Körperinnentemperatur wurde rektal mit einem digitalen Thermometer in °C gemessen. Die Beurteilung der Operationswunden erfolgte subjektiv mit Hilfe eines vor Beginn der Studie festgelegten Schemas.

Tab. 3: Scoring-System zur Objektivierung der klinischen Befunde.

Grad	0	1	2	3
Tumor	keine	geringgradig	mittelgradig	hochgradig
Calor	keine	geringgradig	mittelgradig	hochgradig
Dolor	kein	geringgradig	mittelgradig	hochgradig
Exsudation:				
Menge	ohne	geringgradig	mittelgradig	hochgradig
Charakter	-----	serös	blutig	eitrig

3.1.1.2 Entnahme der Blutproben

Die Entnahme der Blutproben erfolgte nach lokaler Desinfektion an der Vena jugularis externa. Zum Einsatz kam das System S-Monovette® (Sarstedt, Nürnberg). Serum wurde mit Hilfe eines Koagulationaktivatorgels gewonnen, da für die Bestimmung von Haptoglobin eine Hämolyse verhindert werden musste. Des Weiteren wurden Proben in Röhrchen mit Antikoagulantien gewonnen. Dabei handelte es sich um Lithium-Heparin (10-30 I.E./ml), Zitrat (1:10) und Kalium₃-EDTA (1%) (Sarstedt, Nürnberg).

3.1.1.3 Probenaufbereitung

Nach Entnahme wurden die Proben gekühlt und innerhalb von zwei Stunden bearbeitet. Die Analyse der EDTA-Blutproben zur Bestimmung des roten und weißen sowie des Differenzialblutbildes erfolgte direkt. Zur Herstellung des Heparinplasmas wurde das Probenröhrchen eine Minute bei 10 000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die Bestimmung von Totalplasmaprotein (TPP) und Albumin geschah mit bei 4°C gelagerten Proben. Das Restplasma wurde aliquotiert und bei -18°C für weitere Untersuchungen eingefroren. Zitrat-Plasma wurde durch 10 minütiges zentrifugieren bei 30 000 Umdrehungen pro Minute gewonnen, der Überstand abpipettiert, zur Fibrinogenbestimmung genutzt und das Restplasma bei -18°C gelagert. Bis zur vollständigen Gerinnung musste das Serumröhrchen eine halbe Stunde bei Raumtemperatur ruhen. Die Zentrifugation bei 10 000 Umdrehungen pro Minute trennte das Serum vom Blutkuchen. Auch das Serum wurde aliquotiert und bei -18°C eingefroren.

3.1.2 Laboruntersuchungen

Die Laboruntersuchungen gliederten sich in zwei Abschnitte. Die hämatologischen Parameter wie rotes, weißes und das Differenzialblutbild wurden innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme bestimmt. Die Bestimmung der einzelnen Proteine erfolgte je nach Möglichkeit entweder mit frischen, mit gekühlten oder tiefgefrorenen Proben. Um die Übereinstimmung der Ergebnisse zu überprüfen wurden zwei Lagerungsversuche durchgeführt.

3.1.3 Methodenvergleich

Zur Bestimmung der hämatologischen Parameter dienen der Vet ABC[®] (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) der QBC[®]VetAutoread[™] (IDEXX, Wörrstadt) und zusätzlich zur Bestimmung des Differenzialblutbildes der ADVIA 120 (Bayer[®], Leverkusen). bzw. ein Blutaussstrich. Eine genaue Beschreibung der Funktionsweisen der verwendeten Hämatologiesysteme ist in der Habilitationsschrift von MORITZ (2000) zu finden.

3.1.3.1 Vet ABC[®] (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich)

Der Vet ABC[®] (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) ist ein Durchflusszytometer, welches zur Zählung und Differenzierung der korpuskulären Blutbestandteile die Impedanzmessung (Widerstandsmessung, Coulter-Prinzip) nutzt. Neben der Widerstands- und Hochfrequenzmessung wird zusätzlich noch die reagenzvermittelte Zelllyse zur Leukozytendifferenzierung eingesetzt.

Bei der Widerstandsmessung wird ein Gleichspannungsfeld in der Zählkammer angelegt. Die durch die Zählkapillare geleiteten Zellen verändern den elektrischen Widerstand im System. Diese Schwankungen der Stromstärke sind proportional zur Zellgröße. Die Hochfrequenzmessung wird mit Hilfe eines Wechselstromfeldes durchgeführt. Dadurch kann die Fähigkeit zur Energieaufnahme jeder einzelnen Zelle gemessen werden. Dies lässt eine Aussage über Struktur und Größe des Zellkerns, sowie über das Kern/Plasma-Verhältnis zu. Zur Verfeinerung dieser Methode dient das Lysereagenz. Seine Wirkung ist abhängig vom Zelltyp. So bringt es Lymphozyten zum Schrumpfen, wohingegen es z.B. bei PNG fast keine Veränderung bewirkt.

3.1.3.2 QBC[®]VetAutoread[™] (IDEXX, Wörrstadt)

Der QBC[®]VetAutoread[™] (IDEXX, Wörrstadt) Hämatologie-Analyzer nutzt die Aufspaltung der verschiedenen Blutzellen in einem Mikrohämatokritröhrchen mit der Zentrifuge in Kombination mit Acridinorange zur Anfärbung von für jeden Zelltyp spezifischen Zellbestandteilen. Dazu wird in das mit Acridinorange beschichtete Röhrchen K₃-EDTA-Blut und ein Schwimmer eingebracht, dessen spezifisches Gewicht dem des Buffy-Coats entspricht. So wird der Buffy-Coat auf die Länge des

Schwimmers ausgedehnt. Zu Beginn jedes Arbeitstages muss das Gerät mit einem speziellen Eichstäbchen kalibriert werden. Nach einer 5 minütigen Zentrifugation in der QBC®VetCentrifuge™ (IDEXX, Wörrstadt) wird das Probenröhrchen in den QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) eingelegt. Die sich im Gerät befindende Optik analysiert Röhrchen, Schwimmkörper und misst die Fluoreszenz der angefärbten Blutzellen. Mit den erhaltenen Messwerten können folgende Parameter berechnet werden: Hämatokrit (HKT) in %, Hämoglobin (Hb) in g/dl, mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) in g/dl, Gesamtleukozytenzahl (WBC) in $10^9/l$, Granulozytenzahl in % und $10^9/l$, Lymphozyten- und Monozytenzahl als ein Parameter in % und $10^9/l$ sowie die Thrombozytenzahl (PLT) in $10^9/l$.

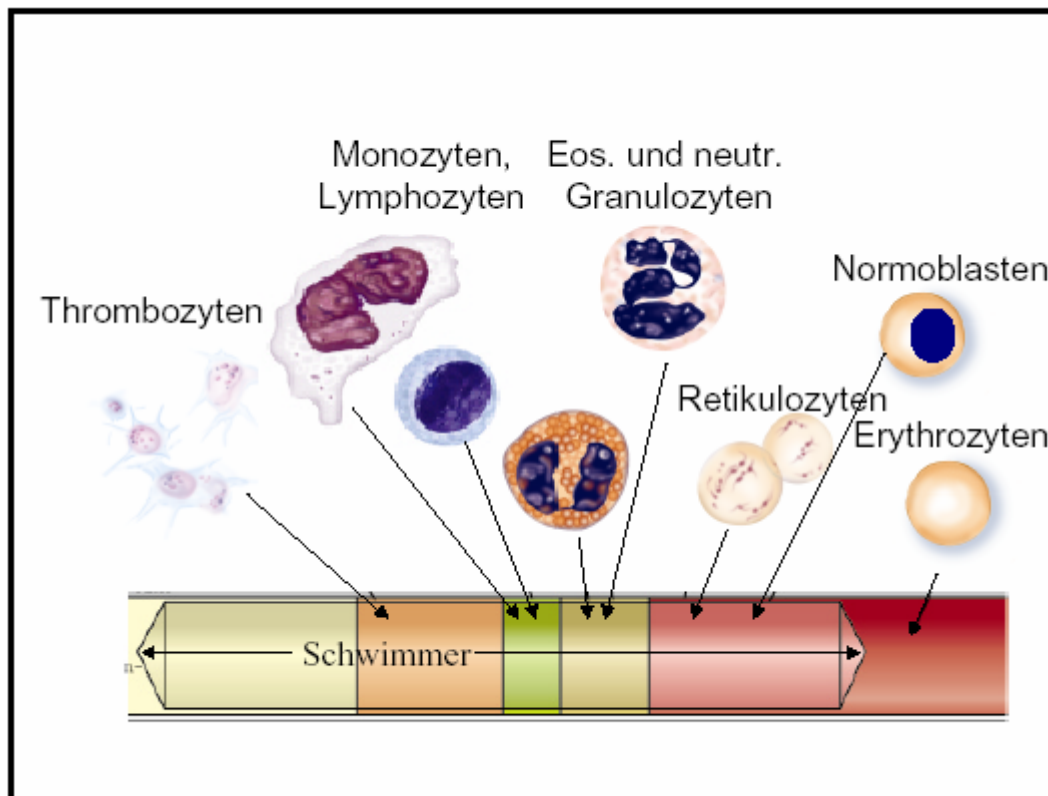


Abb. 7: Schematische Darstellung der einzelnen Schichten nach Zentrifugation QBC®Analyse VetAutoread™ Hämatologiesystem (IDEXX, Wörrstadt).

3.1.3.3 Manuelle Leukozytendifferenzierung/ADVIA (Bayer[®], Leverkusen)

Bei allen nicht in Giessen entnommenen Proben erfolgte eine manuelle Leukozytendifferenzierung. Dazu wurden die Blutausstriche mit der panoptischen Färbung nach Pappenheim gefärbt. Für die Färbung wurde May-Grünwald-Lösung (Nr.1424 Fa. Merck, Darmstadt) und Giemsa-Lösung (Nr.9204 Fa. Merck, Darmstadt) verwendet. Die Differenzierung wurde mit zweimal 100 Leukozyten durchgeführt, ohne dass die Untersucherin die Gruppenzugehörigkeit kannte.

Die Bestimmung des großen Blutbildes mit Leukozytendifferenzierung erfolgte bei Proben aus Giessen mit dem Hämatologie-Messgerät ADVIA 120 (Bayer[®], Leverkusen). Dieses Gerät nutzt die Doppelwinkel-LASER-Streulicht-Technologie sowie die Absorption (Peroxidaseaktivität) und Streuung (Volumen) einer Halogenlichtquelle zur Diagnostik.

3.1.4 Proteinbestimmung

3.1.4.1 Interleukin-6 (IL-6)

Ein IL-6 Bioassay fand Verwendung für die Bestimmung des biologisch aktiven Interleukin-6 (IL-6) im Plasma. Grundlage dieses Bioassays ist die Hybridoma Zelllinie B 9 (ARDEN et al., 1987; VAN OERS et al., 1988). Dieser Nachweis findet in den meisten Literaturstellen zur Bestimmung von equinem IL-6 Verwendung (MORRIS et al., 1992b; MOORE et al., 1995; BARTON et al., 1997). Für das Wachstum dieser Zelllinie ist IL-6 essentiell. Es wirkt hochspezifisch und beeinflusst dosisabhängig das Zellwachstum. Die resultierende Zellzahl ist somit proportional zur IL-6-Aktivität der Plasmaprobe. Die Bestimmung der Zellzahl erfolgt nach der Inkubation mit einem Farbstoff, welcher in den Mitochondrien lebender Zellen verstoffwechselt wird. Anschließend werden die Zellen lysiert und der Farbstoffgehalt photometrisch bestimmt. Internationale Standardreihen dienen der Quantifizierung von Verdünnungsreihen um eine Dosis-Wirkungsbeziehung herstellen zu können (MEAGER und DAS, 1994).

Die für diesen Versuch verwendete B 9 Zelllinie ist ein Subklon der von LANDSDORP et al. (1986) entwickelten Hybridoma Zelllinie B 13.29. Mit Hilfe dieser

Zelllinie ist es möglich, das von einem einzigen menschlichen Monozyten gebildete IL-6 nachzuweisen (ARDEN et al., 1987). Das Kultur- und Assaymedium besteht aus „*Rothwell Park Memorial Institut Medium*“ (RPMI), fötalem hitzeinaktiviertem Kälberserum (FCS), L-Glutaminsäure, Mercaptoethanol und Gentamicin (alle Substanzen Fa. Life Technologies, Paisley/Schottland). Dem Kulturmedium wird *hrlL-6* zugesetzt.

Das Assay wird in sterilen 96-Well Mikrotiterplatten (Cellstar®, Greiner, Frickenhausen) durchgeführt. Zu Beginn eines Testdurchlaufes werden die Zellen vom IL-6-haltigen Kulturmedium befreit. Dies geschieht durch dreimaliges zentrifugieren (2300 U/min, je 10 Minuten), dekantieren und durch Resuspension in IL-6 freiem Kulturmedium. Daraufhin wird die Zahl der lebenden Zellen in einer Zählkammer (Hämozytometer nach THOMA) bestimmt, um eine Zellsuspension herzustellen, welche ca. 5000 Zellen/100 µl Medium enthält. Jedes Assay beinhaltet zwei Standards und zwei Qualitätskontrollen. Die Standards und die Qualitätskontrollen bestehen aus festgelegten Mengen *hrlL-6* (Referenz-Code 89/548, *National Institute for Biological Standards and Control* (NIBSC), Potters Bar/Great Britain). Die Qualitätskontrolle wird mit 10 IU/ml und 30 IU/ml, der Standard (St) mit 50 IU/ml IL-6 durchgeführt. Von den Qualitätskontrollen (QK), dem Standard und den Proben werden Verdünnungsreihen mit dem Faktor 1:1 erstellt. Die Standardverdünnungsreihe wird einfach bestimmt, Kontrollen und Proben werden doppelt bestimmt. Der höchste Verdünnungsfaktor ist 1:16.

Die so bestückte Mikrotiterplatte wird für 72 Stunden bei 37°C, 95% Luftfeuchtigkeit und CO₂-Gehalt von 5% im Brutschrank inkubiert. Im nächsten Schritt werden in jedes Well 25µl des Farbstoffs MTT (Sigma Chemicals, St. Louis/USA) in einer Konzentration von 5 mg/ml eingebracht. Es folgen weitere 4 Stunden Inkubation. In den lebenden Zellen setzt währenddessen die mitochondriale Succinyl-Dehydrogenase das gelbe MTT-Tetrazoliumsalz in dunkelblaue MTT-formazan-Kristalle um (MOSMAN, 1983; IBELGAUFTS, 1995). Nach Ablauf der Inkubationszeit werden 125 µl abpipettiert und verworfen. Eine Lyse der Zellen bewirken je 100µl eines Salzsäure-(0.04M)-Isopropanol-Gemisches, welche in jedes Well verbracht wird. Die Mikrotiterplatte wird abgedunkelt für weitere 12 Stunden inkubiert. Die Extinktionen werden dann bei einer Wellenlänge von 550 nm in einem ELISA-Reader (Digiscan, Asys Hitech, Eugendorf/Österreich) photometrisch bestimmt und aufgezeichnet (Mikrowin 2000, Asys Hitech, Eugendorf/Österreich). Die Bestimmung

von Interleukin-6 wurde durch die Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Roth im Institut für Veterinärphysiologie (JLU Giessen) durchgeführt.

3.1.4.2 Totalplasmaprotein (TPP)

Die Totalplasmaprotein-(TPP)-Konzentration wurde mit dem Testkit Total Protein 250 (ABX Diagnostics, Montpellier/Frankreich) und dem Analyzer COBAS Plus (Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) quantitativ bestimmt. Das Testprinzip beruht auf der photometrischen Bestimmung eines Eiweiß-Kupferionen-Komplexes in alkalischer Lösung. Dabei binden Proteine Kupfer-Tartrat und bilden dabei einen Farbkomplex. Die Farbintensität dieser Biuret-Reaktion steht im direkten Verhältnis zur Proteinkonzentration.

3.1.4.3 Albumin

Die Albuminplasmakonzentration wurde mit dem Testkit LT-SYS®Albumin Bromkresolgrün (Labor+Technik Eberhard Lehmann, Berlin) und dem COBAS Plus (Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) durchgeführt. Bromkresolgrün bildet mit Serumalbumin einen Farbkomplex, der bei 578 nm photometrisch gemessen wird.

3.1.4.4 Globulin

Die Subtraktion der Albuminkonzentration von der TPP-Konzentration ergab die Globulinkonzentration im Plasma.

3.1.4.5 Serum-Amyloid-A (SAA)

Die Bestimmung von SAA erfolgte mit dem LZ Test ‚Eiken‘ SAA (Eiken Chemical Co. Ltd., Tokyo/Japan). Dabei handelt es sich um einen immunturbidimetrischen Latex Agglutinationstest. Mit einem automatischen Analysegerät wird photometrisch eine Trübung gemessen. Diese Trübung wird durch die Reaktion antikörperbeschichteter Latexpartikel mit dem SAA in der Probe hervorgerufen. Die Latexpartikel sind mit mono- und auch mit polyklonalen Antikörpern beschichtet (WADA et al., 1997). Von der gleichen Firma gelieferte Standards dienen der Erstellung einer Kalibrationskurve mit welcher die gemessenen Extinktionen verglichen werden. Gemessen wurden die

Proben mit dem Analysegerät ADVIA1650 (Bayer, Leverkusen) bei einer Wellenlänge von 658nm und nach 10 Minuten Inkubationszeit.

Der Messbereich des Tests liegt zwischen 5 – 300 µg/ml.

Der Hersteller des Tests gibt Serum als geeignete Probenart an. Entweder frische oder bei -20°C gelagerte Proben können ohne Beeinflussung der Ergebnisse bestimmt werden. Auch haben Bilirubin, Hämoglobin und Lipide keinen Einfluss auf die Messung (WADA et al., 1997). Gemessen wurden Serumproben welche bei -20°C gelagert worden waren. STONEHAM et al. (2001) verwendeten dieses Testkit zur Messung von SAA bei Fohlen. Die Evaluierung des LZ Test ‚Eiken‘ SAA (Eiken Chemical Co. Ltd, Tokyo/Japan) für Pferde ergab eine sehr gute Testsicherheit bei der Bestimmung von SAA im mittleren und oberen Messbereich des Testkits (JACOBSEN et al., 2005b). Bei einer SAA-Konzentration von ca. 0,7 µg/ml ist der Variationskoeffizient 24,4 % bei der mehrmaligen Messung einer Probe (JACOBSEN et al., 2005b).

3.1.4.6 Haptoglobin

Haptoglobin wurde mit Hilfe des Phase™ Range Haptoglobin Testkits (Tridelta Development Limited, Bry/Irland) am COBAS Mira S (Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) photometrisch bestimmt. Dieses Testkit nutzt die Pseudoperoxydaseaktivität des Hämoglobins zum Nachweis von Haptoglobin in Serum oder Plasma. Die Pseudoperoxydaseaktivität des Hämoglobins wird durch einen niedrigen pH-Wert gehemmt. Das Haptoglobin in der Probe bildet mit dem Hämoglobin einen Komplex. Dadurch bleibt die Peroxidaseaktivität des Hämoglobins auch bei niedrigem pH-Wert erhalten. Im nächsten Schritt wird dann Chromogen und Substrat mit der Probe vermischt. Während der Inkubationszeit kommt es zu einem Farbwechsel, welcher durch die Peroxidase katalysiert wird. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird die optische Dichte bei 600 nm photometrisch bestimmt. Die gemessene Farbintensität korreliert mit der Haptoglobinkonzentration in der Probe. Die Test-Sensitivität liegt bei 0,05 mg/ml Haptoglobin. Die Nachweisgrenzen des Testkits liegen zwischen 0,12 mg/ml und 2,0 mg/ml. Tridelta Development Limited hatte zum Zeitpunkt der Versuche noch keine offiziellen Referenzwerte der Haptoglobinwerte beim Pferd herausgegeben. Nach GALLAGHER (pers. Mitteilung) liegen die Referenzwerte beim Fohlen bei $5,35 \pm 2,36$ mg/ml und die adulter Tiere bei

2,19 ± 1,54 mg/ml Haptoglobin. Deshalb wurden die Proben auf Empfehlung von Herrn Gallagher (Marketing Manager, Tridelta Development Limited, Wicklow/Irland) 1:10 mit Phosphat Buffered Saline (PBS) des Testkits verdünnt.

Tab 4: Präzision bzw. Variation (n=10) des PhaseTMRange Haptoglobin Testkits (Tridelta Development Limited, Bry/Irland)

Intraassay Präzision/Variation

Bereich	Mittlere HP Konzentration (mg/ml)	SD	Variationskoeffizient (%)
niedrig	0,23	0,003	1,36
mittel	0,97	0,009	0,09
hoch	2,04	0,02	0,89

Interassay Präzision/Variation

Bereich	Mittlere HP Konzentration (mg/ml)	SD	Variationskoeffizient (%)
niedrig	0,26	0,03	11
mittel	1,11	0,08	6,9

3.1.4.7 Fibrinogen

Zum Nachweis der Fibrinogenkonzentration im Blutplasma wurden zwei Methoden verwendet.

Die Hitzepräzipitation beruht auf der Eigenschaft von Fibrinogen, zwischen 56°C und 58°C auszufallen, während die restlichen Plasmaproteine in Lösung bleiben (JAIN, 1986b). Verwendung fand in dieser Studie der QBC[®]VetAutoreadTM (IDEXX, Wörrstadt) in Kombination mit dem IDEXX Fibrinogen-Heizblock (IDEXX, Wörrstadt). Nach der hämatologischen Bestimmung kamen die Mikrohämatokritröhrchen zur Erwärmung 5 Minuten in den Heizblock. Nach erneuter Zentrifugation in der QBC[®]VetCentrifugeTM (IDEXX, Wörrstadt) erfolgte die Auslesung des Ergebnisses mit dem QBC[®]VetAutoreadTM (IDEXX, Wörrstadt).

Das zweite Verfahren war die Fibrinogenbestimmung nach CLAUSS (1957) mit dem Dade[®] Thrombin Reagent (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg) unter

Verwendung des Dade® Owren's Veronal-Puffer (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg). Das Prinzip der Methode beruht auf der Umwandlung des Plasmaproteins Fibrinogen in sein unlösliches Polymer Fibrin durch das Enzym Thrombin. Bei hohen Thrombinkonzentrationen (ungefähr 100 NIH – Einheiten/ml) und niedrigen Fibrinogenkonzentrationen (5 - 80 mg/dl) wird die Reaktionsrate und damit die Zeitspanne bis zur vollständigen Koagulation des Fibrins von der Fibrinogenkonzentration bestimmt. Auf doppeltlogarithmischem Papier aufgezeichnet, ist die Thrombingerinnungszeit in Relation zur Fibrinogenkonzentration linear (CLAUSS, 1957). Diese Kalibration der Messung erfolgte mit humanen Standards der Dade Behring Marburg GmbH (Marburg).

Zur Bestimmung wurden 100 µl Zitratplasma mit 900 µl Dade® Owren's Veronal-Puffer (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg) in einem Eppendorf® Gefäß gemischt. Davon wurden 200 µl zur Fibrinogenbestimmung in eine Küvette des Amelung Coagulometers KC44 (Heinrich Amelung GmbH, Lemgo) eingebracht. Für jede Probe erfolgte eine Doppelbestimmung. Nach der Inkubationszeit von 120 Sekunden wurden 25 µl Dade® Thrombin Reagent (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg) in die Küvette gegeben und die Stoppuhr des Koagulometers aktiviert. Die gestoppte Zeit bis zur Gerinnung der Probe verglichen mit einer Labor- und chargenspezifischen Tabelle in mg/dl ergab den gesuchten Fibrinogenwert. Zur Auswertung kam der Mittelwert beider Messungen.

3.1.5 Gruppen

Das Patientenmaterial setzt sich aus Tieren zusammen, die zwischen August 2002 und September 2003 an der Klinik für Pferde, -Chirurgie- und Lehrschiene der JLU Giessen, der Tierklinik Starnberg sowie in dem Gestüt Lewitz operiert wurden. Unmittelbar vor den Routineeingriffen zeigten alle Patienten klinische Parameter innerhalb des Referenzintervalles und ein ungestörtes Allgemeinbefinden. Vier verschiedene operative Eingriffe dienten im Rahmen dieser Arbeit als Entzündungsmodell. Zusätzlich wurden die Entzündungsparameter bei Pferden mit unterschiedlichen Verletzungen verfolgt. Eine Gruppe gesunder Pferde in unterschiedlicher Haltung und Nutzung diente als Referenzgruppe.

3.1.5.1 Referenzgruppe

Die Festlegung laborspezifischer Referenzwerte gelang mit Hilfe von Blutproben 50 gesunder Pferde. Um geschlechtsspezifische Schwankungen der untersuchten Parameter festzustellen wurden die 50 Tiere nach Geschlecht und Fortpflanzungsfähigkeit in drei Gruppen unterteilt (Hengste, Stuten, Wallache). In der Gruppe der Hengste sind die Rassen wie folgt vertreten: 1 Vollblüter, 1 Haflinger, 1 Quarter Horse und 22 Warmblüter mit einem mittleren Alter von $7,5 \pm 5,5$ Jahren. Die Stutengruppe setzt sich aus 2 Vollblütern, 1 Quarter Horse und 12 Warmblütern mit einem mittleren Alter von $11,4 \pm 3,9$ Jahren zusammen. Drei Haflinger, 1 Quarter Horse, 4 Warmblüter und 2 deutsche Reitponys mit einem mittleren Alter von $7,3 \pm 3,4$ Jahren bilden die Gruppe der Wallache.

3.1.5.2 Arthroskopische Eingriffe (Gruppe 1)

Diese Gruppe umfasst insgesamt 24 Patienten, bei welchen aufgrund einer Lahmheit während einer Allgemeinnarkose ein bzw. zwei Gelenke arthroskopiert wurden. Die Pferde hatten ein mittleres Alter von $8,7 \pm 3,6$. In der Gruppe sind folgenden Rassen vertreten: 18 Warmblüter, 2 Quarter Horse, 1 Traber, 1 Fries, 1 Haflinger und ein Reitpony.

3.1.5.3 Laparoskopische Eingriffe (Gruppe 2)

Insgesamt sind in dieser Gruppe 27 Pferde vertreten. Bei 16 Pferden wurde eine diagnostische Laparoskopie aufgrund rezidivierender Koliksymptomatik durchgeführt. Einem endoskopischen Verschluss des Milz-Nieren-Raumes wurden sechs Pferde unterzogen. Diese Operationen fanden in einen Zeitraum von 14 Tagen bis 6 Monaten nach einer Laparotomie statt. Bei vier Stuten musste aufgrund tumoröser Entartung ein Ovar bzw. beide Ovarien endoskopisch entfernt werden und einem kryptorchiden Hengst mit beidseitig abdominal gelegenen Hoden wurden diese ebenfalls endoskopisch entfernt. Das mittlere Alter betrug $10,3 \pm 3,8$ Jahre. In der Gruppe sind 22 Warmblüter, 2 Arabische Vollblüter und je ein Fries, Haflinger und ein Reitpony vertreten.

3.1.5.4 Konventionell-chirurgische Eingriffe (Gruppen 3 und 4)

Die konventionell-chirurgischen Eingriff, die in Gruppe 3 zusammengefasst wurden, waren zum einen die bedeckte Kastration und zum anderen die Exstirpation eines Griffelbeinanteils. Diese Gruppe umfasst 31 Tiere, davon 22 Kastrationen und 9 Griffelbeinexstirpationen.

Patienten in Gruppe 4 sind 12 Pferde, welche im Stall mit Hilfe einer Injektionsnarkose abgelegt und bedeckt kastriert wurden. In Folge dieser Operation zeigten alle Tiere Erhöhung der Körpertemperatur, Schwellung und Schmerzhaftigkeit sowie in manchen Fällen Exsudation. Insgesamt wurde bei allen Tieren dieser Gruppe eine mittel- bis hochgradige Wundheilungsstörung diagnostiziert. Alle Tiere entstammten einer Gruppenhaltung, sie waren zum Zeitpunkt der Kastration 2 Jahre alt und es handelte sich hierbei ausschließlich um Warmblüter.

Tab. 5: Übersichtstabelle Gruppen, Zahl der Tiere, Alter ($\bar{x} \pm SD$) und Geschlecht der Tiere.

Gruppe	Zahl der Tiere	Alter ($\bar{x} \pm SD$)	Geschlecht		
			männlich	weiblich	kastriert
1	n= 24	8,7 \pm 3,6	0	7	17
2	n= 27	10,3 \pm 3,8	2	7	17
3	n= 31	6,3 \pm 4,9	22	6	3
4	n= 12	2	12	0	0
Referenzgruppe	n= 50	7,5 \pm 5,5 (♂)	25	15	10
		11,4 \pm 3,9 (♀)			
		7,3 \pm 3,4 (♂+kastr.)			

3.1.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten führte die Arbeitsgruppe Biomathematik (Dr. Failing) mit dem Statistikprogrammpaket BMDP/Dynamic Release 7.0 (BMDP Statistical Software, Inc., Los Angeles/USA) durch. Die einfache Datenbeschreibung erfolgte mit dem Programm BMDP1D unter Angabe der arithmetischen Mittelwerte (\bar{x}), der Standardabweichung (SD), des Standardfehlers (SE), des Stichprobenumfanges (n), der Minimal- und Maximalwerte und der Spannbreite der Resultate (Range). Um die Darstellung übersichtlich zu gestalten, enthalten die folgenden Tabellen das arithmetische Mittel (\bar{x}), die Standardabweichung (SD) und den Stichprobenumfang (n). Zur Beschreibung eines Parameters innerhalb einer Gruppe im Zeitverlauf wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse gefolgt von dem A-posteriori *Dunn's multiple comparison*-Test mit Hilfe der GraphPad® Software 3.0 (San Diego, Kalifornien/USA) durchgeführt. Die zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) zur Feststellung des Gruppen- und Zeiteinflusses berechnete das Programm BMDP5V. Die statistischen Verfahren des Methodenvergleichs werden in den entsprechenden Kapiteln behandelt. Die graphische Darstellung erfolgte mit der GraphPad® Software (San Diego, Kalifornien/USA) und dem Programm Microsoft® Excel 2002 (Microsoft Corporation/USA).

Die Signifikanzgrenze wurde bei $p < 0,05$ gezogen.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Methodenvergleich

Es wurden die Ergebnisse der beiden Hämatologiesysteme Vet ABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) und QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt), miteinander verglichen. Der Methodenvergleich wurde mit allen gemessenen Proben durchgeführt. Die statistische Analyse erfolgte mit dem Programm BMDP/Dynamic Release 7.0 (BMDP Statistical Software, Inc., Los Angeles/USA) mit Unterstützung durch die Arbeitsgruppe Biomathematik (Dr. Failing). Die Daten wurden mit der Bland-Altman-Analyse, dem t-Test für verbundene Stichproben (Mittelwertvergleich) und der Korrelations- und Hauptkomponentenanalyse berechnet.

3.2.1.1 Hämatologie

Zum Vergleich der beiden Hämatologiesysteme wurden die Parameter HKT, PLT, WBC-Count, PNG absolut, PNG in %, L/M absolut und in % herangezogen.

Anhand Tabelle 6 ist zu erkennen, dass die beiden Messverfahren sehr gute Kongruenzen bezüglich der Parameter WBC-Count ($r=0,942$) und PNG absolut ($r=0,934$) aufweisen. Die Messung der Parameter HKT ($r=0,82$), PNG in % ($r=0,857$) und L/M in % ($r=0,854$) zeigt eine brauchbare Übereinstimmung. Mit einem Korrelationskoeffizient von $r=0,561$ decken sich die Resultate für PLT nicht. Um diese Daten zu verifizieren wird der t-Test für verbundene Stichproben berechnet. Mit Hilfe des t-Testes werden die beiden Mittelwerte der Stichproben miteinander verglichen. Diese Berechnung wurde mit dem Programm BMDP3D durchgeführt. Lag die errechnete Überschreitungswahrscheinlichkeit P über oder war gleich dem Signifikanzniveau α , so galt die Nullhypothese, dass die Mittelwerte der beiden Messungen übereinstimmen als angenommen.

Tab. 6: Aufstellung der Hauptkomponentengleichungen, die für den Methodenvergleich mit der Korrelations- und Hauptkomponentenanalyse berechnet wurden. Das Signifikanzniveau liegt bei allen Parametern unter $p < 0,001$.

Parameter	Stichprobenumfang	Korrelationskoeffizient r	Hauptkomponentengleichung
HKT	n=688	0,82	$y = 7,6368 + 0,75064 \cdot x$
PLT	n=682	0,561	$y = 115,63 + 0,59456 \cdot x$
WBC	n=687	0,942	$y = 1,2526 + 0,85771 \cdot x$
PNG in $\times 10^9/L$	n=686	0,934	$y = 0,94272 + 0,7964 \cdot x$
PNG in %	n=686	0,857	$y = 2,6615 + 0,92125 \cdot x$
L/M absolut	-	-	-
L/M in %	n=686	0,854	$y = 5,1574 + 0,92228 \cdot x$

HKT= Hämatokritwert; PLT= Thrombozytenzahl; WBC= Leukozytenzahl; PNG= polymorphkernige neutrophile Granulozyten; L/M= Lymphozyten/Monozyten

Als einziger der untersuchten Parameter wurde für den WBC-Count ein gleicher Mittelwert mit einem Signifikanzniveau $\alpha = 0,0001$ gefunden. Die Bland-Altman-Analyse als 3. Testverfahren bezeichnet die Abhängigkeit der Differenz eines Variablenpaares von dem Mittelwert dieser beiden (s. Tab. 7). Die Signifikanz der hämatologischen Parameter, mit Ausnahme der PLT-Messung ist $P < 0,001$. Die Bland-Altman-Analyse für PLT erwies sich als nicht signifikant ($P = 0,69$).

Tab. 7: Tabellarische Darstellung von Stichprobenumfang, Korrelationskoeffizient r und der Regressionsgerade, welche mit der Bland-Altman-Analyse für den Methodenvergleich ermittelt wurden. Das Signifikanzniveau ist $P < 0,001$ außer für PLT.

Parameter	Stichprobenumfang	Korrelationskoeffizient r	Regressionsgerade
HKT	n=688	0,152	$y = -2,3772 + 0,0964 \cdot x$
PLT (P=0,69)	n=682	-0,069	$y = -46,424 - 0,0737 \cdot x$
WBC	n=687	0,272	$y = -0,84034 + 0,09692 \cdot x$
PNG absolut	n=686	0,407	$y = -0,62844 + 0,16405 \cdot x$
PNG in %	n=686	-0,147	$y = -1,0074 - 0,08322 \cdot x$
L/M absolut	-	-	-
L/M in %	n=686	-0,147	$y = -1,0074 - 0,08322 \cdot x$

HKT= Hämatokritwert; PLT= Thrombozytenzahl; WBC= Leukozytenzahl; PNG= polymorphkernige neutrophile Granulozyten; L/M= Lymphozyten/Monozyten

Das durch die Bland-Altman-Analyse berechnete Verhältnis zwischen Differenz und Mittelwert der Ergebnisse der beiden Bestimmungsverfahren ist in Tab. 7 dargestellt. Der Korrelationskoeffizient war für keinen Parameter zufrieden stellend. Die Regressionsgeraden wiesen nur geringe Steigungen auf und kamen damit der angestrebten Parallelen zur x-Achse nahe.

3.2.1.2 Fibrinogenbestimmung

Die unterschiedlichen Messverfahren zur Fibrinogenbestimmung korrelierten nach Berechnung mit der Hauptkomponentenanalyse gut miteinander, wobei die Steigung der Regressionsgeraden 0,51082 anstatt der geforderten 1 betrug. Die Regressionsgerade der Bland-Altman-Analyse zeigte ebenfalls, wie in Tab. 8 dargestellt, eine Steigung von 0,53962. Allerdings wird bei dieser Berechnung im Idealfall eine Gerade ohne Steigung erwartet. Das bedeutet, dass die Differenz niedriger Messwerte annähernd 0 ist, wohingegen ein höherer Fibrinogengehalt in den Proben deutlich höhere Resultate mit der Hitzepräzipitation als mit der

Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) ergeben. Die Mittelwerte, berechnet mit dem t-Test, unterschieden sich deutlich.

Tab. 8: Ergebnisse der Korrelations- und Hauptkomponentenanalyse sowie der Bland-Altman-Analyse zum Vergleich der beiden Fibrinogenbestimmungen ($p < 0,001$).

Stichprobenumfang	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
Korrelations- und Hauptkomponentenanalyse		
n=668	0,854	$y = 55,089 + 0,51082 \cdot x$
Bland-Altman-Analyse		
n=668	0,718	$y = -41,416 + 0,53962 \cdot x$

3.2.2 Lagerungsversuche

Mit zwei Lagerungsversuchen sollte der Einfluss verschiedener Lagerungstechniken auf den Proteingehalt der Proben untersucht werden.

3.2.2.1 Zitrat-Plasma

Zu Beginn des Versuches wurde von einem Pferd aus dem Besitz der Klinik für Pferde Blut aus der V. jugularis entnommen. Das mit Zitrat versetzte Blut wurde umgehend, wie in Kap. 3.1.1.3 beschrieben, zentrifugiert und aliquotiert. Die Lagerung des Zitrat-Plasmas erfolgte bei Raumtemperatur (20-25°C), im Kühlschrank (4-8°C) und tiefgekühlt (-18°C). Fibrinogen wurde viermal mit der Methode nach CLAUSS (1957) bestimmt. Ein dem Ausgangswert entsprechendes Ergebnis ergab 24 Stunden nach der Entnahme eine Messung aller drei verschieden gelagerten Proben. Nach 21 Tagen wich die bei -18°C gelagerte Probe um 3,1%, die bei 4-8°C gelagerte um 6,1% und die bei Raumtemperatur aufbewahrte um 11% vom Ausgangswert ab (s. Tab. 9).

Tab. 9: Auswirkung verschiedener Lagerungstechniken auf die Fibrinogenbestimmung nach CLAUSS (1957). Fib in g/L.

Ausgangswerte:	Zeit Lagerung bei		1 (24 h)	2 (48 h)	3 (72 h)	1 (21 d)
1,60 1,65 1,70 1,65	20–25°C		1,70	1,55	1,65	1,50
			1,65	1,55	1,65	1,45
			1,70	1,50	1,63	1,48
			1,68	1,53	1,65	1,45
	4–8°C		1,60	1,60	1,55	1,55
			1,65	1,50	1,55	1,55
			1,70	1,58	1,55	1,55
			1,72	1,58	1,52	1,60
	-18°C		1,70	1,50	1,50	1,65
			1,70	1,60	1,55	1,60
			1,75	1,58	1,55	1,60
			1,75	1,55	1,55	1,55

3.2.2.2 Heparinplasma

Ob die Lagerung den Proteingehalt von Heparinplasma beeinflusst, wurde in Plasmaproben 10 gesunder Pferde untersucht. Die Gewinnung des Heparinplasmas erfolgte wie in Kap. 3.1.1.3 beschrieben. Eine Doppelmessung von TPP und Albumin direkt und nach verschiedenen Lagerungsperioden schloss sich an. Die Lagerung je einer Probe für fünf Tage bei 20-25°C und bei 4-8°C sollte Aufschluss über Konzentrationsänderungen geben. Weitere Proben wurden fünf Tage bei 4-8°C und dann weitere zwei Tage bei 20-25°C aufbewahrt. Eine 2. Messung folgte nach 14 Tagen Lagerung bei -18°C. Die erzielten Ergebnisse sind in Tab. 10 und 11 dargestellt.

Die Doppelbestimmung von TPP in der Probe 1 zeigte bei der Anfangsmessung um 18% abweichende Werte. Die verschiedenen Lagerungsformen führten bis auf die kombinierte Lagerung zu kaum signifikanten Abweichungen der TPP-Werte gegenüber dem 0-Wert ($p < 0,01$). Eine Kühlung bei 4-8°C für 5 Tage und eine anschließende Lagerung bei Raumtemperatur korrelierte nur schwach signifikant mit dem 0-Wert.

Die verschiedenen Lagerungsformen hatten, wie in Tab. 11 gezeigt, keinen Einfluss auf die Albuminkonzentration ($p < 0,001$). Schwankungen von über 5% bei der zeitgleichen Doppelbestimmung von 7 Proben weisen auf einen Methodenfehler hin.

Tab. 10: TPP-Werte des Lagerungsversuches in g/l. Fett gedruckt sind die Ergebnisse, welche mehr als 5% voneinander abweichen.

Pferd Nr.	Anfangs-Messung	5 d bei 20-25°C	5 d bei 4-8°C	5 d 4-8°C, dann 2 d 20-25°C	14 d bei -18°C
1	89,1	74,9	78,8	68,2	70,9
	73	73,1	76,9	66,4	70
2	74,3	75,1	79,1	71,1	74,4
	68,9	74,2	76,5	68,6	71
3	70,2	74,4	72,7	65,5	69,3
	68,9	70,8	70	65	65,9
4	69,9	69,8	72,7	66,7	68,2
	69,4	70,2	71,6	63,4	66,9
5	74,4	75,4	76,8	68	72
	73,2	73,9	74,6	68	70,6
6	71,1	67,6	72,8	67,6	69,5
	69,8	67,4	71,4	68,4	68,3
7	64,9	64	68,8	63,2	64,2
	65,9	63,3	69,1	60,7	63,5
8	72,4	70,7	77,5	68,2	70,9
	71,7	69,6	74,3	66,2	68,8
9	63,9	62,2	68,4	59,5	61,8
	63	61,7	67,4	59,4	62,5
10	71,2	69,2	71	64,8	70,7
	69,8	67,1	71,2	62,5	67,4

Tab. 11: Albuminwerte des Lagerungsversuches in g/l. Fett gedruckt sind die Ergebnisse der Doppelbestimmung, welche um mehr als 5% voneinander abweichen.

Pferd Nr.	Anfangs-Messung	5 d bei 20-25°C	5 d bei 4-8°C	5 d 4-8°C, dann 2 d 20-25°C	14 d bei -18°C
1	39,7	38	40,1	37,8	37,7
	39	36,5	38,8	36,1	37,2
2	32,3	30,8	34,2	31,6	32,3
	31,7	31,8	32,8	30,8	29,9
3	31,2	31,4	29,6	31,6	29,6
	31,3	30	30,8	29,2	30,3
4	26,9	26,9	28,1	26,6	24,8
	26,3	27,3	27,1	25,9	26,4
5	37,7	36,7	38,8	35,3	36,9
	37,1	36,5	38,4	36,2	37,1
6	34	33,4	32,8	33,8	32
	34,4	32,5	33,4	32	30,8
7	37,6	37,4	39	36,3	36,5
	37,7	36,1	37,7	35,9	35,5
8	34	33,9	34,8	31,7	31,9
	34	30,8	33,5	32,9	32,2
9	33,9	32,2	35,4	32,5	34,2
	33,7	33,7	32,8	32,5	33,8
10	34	32,8	34,3	33,5	34
	33,1	33,2	33,8	31,7	32,3

3.2.3 Referenzgruppen

Die Untersuchung der geschlechtsspezifischen Varianzen unabhängig vom Alter ergab einige statistisch signifikante Unterschiede. Dies betraf insbesondere die Gesamtleukozytenzahl (WBC-Count), das Differenzialblutbild und einige serologische Parameter. Die Berechnung erfolgte mit dem Programm BMDP7D (einfaktorielle Varianzanalyse). Im Folgenden werden nur die Parameter mit signifikanten Unterschieden zwischen den Geschlechtern beschrieben. Eine ausführliche Tabelle befindet sich im Anhang (s. Tab I).

Die Bestimmung der Leukozyten wies bei Wallachen niedrigere ($p < 0,01$) Leukozytenzahlen als bei Stuten und Hengsten auf. Der arithmetische Mittelwert (\bar{x}) und die Standardabweichung (SD) der Wallache betrug $6,91 \pm 1,02 \times 10^9/L$ im Vergleich zu Stuten und Hengsten, deren Messergebnisse höher lagen ($8,35 \pm 1,23 \times 10^9/L$ bzw. $8,29 \pm 1,32 \times 10^9/L$).

Die Messung der Lymphozyten in % ergab hoch signifikant ($p < 0,001$) niedrigere Werte für Stuten im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen. Für Stuten lagen das arithmetische Mittel und die Standardabweichung bei $23,91 \pm 1,23 \%$, während diese Werte bei Wallachen und Hengsten $34,98 \pm 7,11 \%$ bzw. $26,95 \pm 9,63 \%$ betrugen. Da hier mit dem Levens-Test deutliche Streuungsunterschiede berechenbar waren, kam beim Varianz-Test der Welch Test zum Tragen. Auch der prozentuale Anteil der Monozyten war bei Stuten niedriger ($p < 0,05$) als in den beiden anderen Gruppen (Stuten $4,43 \pm 0,82 \%$, Wallache $5,93 \pm 1,48 \%$ und Hengste $4,79 \pm 1,61 \%$).

Der prozentuale und der absolute Anteil an PNG lag bei Wallachen deutlich niedriger ($p < 0,001$) als in den beiden anderen Gruppen.

Bei den serologischen Parametern unterschieden sich TPP, Albumin und Haptoglobin. Wallache hatten signifikant niedrigere ($p < 0,01$) TPP- und Albuminkonzentrationen als die beiden anderen Gruppen. Die Resultate der einzelnen Gruppen waren wie folgt: TPP/Albumin $62,59 \pm 3,4 \text{ g/L}$ / $31,5 \pm 3,2 \text{ g/L}$ (Wallache), $68,0 \pm 4,4 \text{ g/L}$ / $34,23 \pm 2,8 \text{ g/L}$ (Hengste) und $67,1 \pm 5,0 \text{ g/L}$ / $36,1 \pm 2,9 \text{ g/L}$ (Stuten).

Haptoglobin war mit $1,76 \pm 0,62 \text{ mg/ml}$ bei Stuten höher ($p < 0,001$) als bei Hengsten ($1,12 \pm 0,37 \text{ mg/ml}$) und Wallachen ($1,12 \pm 0,67 \text{ mg/ml}$).

Tab. 12: Zusammenfassung der Referenzintervalle der in dieser Arbeit bestimmten Parameter und die Mittelwerte (\bar{x}) und Standardabweichung (SD) von 50 gesunden Tieren für den jeweiligen Parameter.

Parameter	Referenzbereiche *	gesunde Tiere (n=50) $\bar{x} \pm SD$
HKT in %	32,0-46,0	33,2 \pm 4,5
PLT $\times 10^9/l$	100-300	121 \pm 45
WBC $\times 10^9/l$	5,0-10,0	8,03 \pm 1,34
PNG $\times 10^9/l$	1,2-6,8	5,5 \pm 1,3
Lymphozyten $\times 10^9/l$	1,2-3,2	2,2 \pm 0,8
Monozyten $\times 10^9/l$	0,3-0,8	0,3 \pm 0,1
TPP	55-75 g/l	67 \pm 5 g/l
Albumin	24-45 g/l	34 \pm 3 g/l
Globulin (TPP-Albumin)	Alb/TPP 0,7-1,1	35 \pm 6 g/l
Fib (CLAUSS, 1957)	1,5-3,3 g/l	183 \pm 28 mg/dl
Fib (QBC)	200-450 mg/dl	287 \pm 41 mg/dl
Hp	0,65-3,73 mg/ml	1,3 \pm 0,6 mg/ml
SAA	-	1,5 \pm 1,25 μ g/ml
IL-6 (n=6)	-	60,9 \pm 3,2 IU/ml

* Referenzbereiche der Hersteller, für Pferde älter als 18 Monate

HKT= Hämatokritwert; PLT= Thrombozytenzahl; WBC= Leukozytenzahl; PNG= polymorphkernige neutrophile Granulozyten; TPP= Gesamteiweißgehalt; Fib= Fibrinogen, Hp= Haptoglobin; SAA= Serum Amyloid A; IL-6= Interleukin-6

3.2.4 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

3.2.4.1 Allgemeine klinische Untersuchung

3.2.4.1.1 Puls

Die Bestimmung der Pulsfrequenz in den Gruppen Arthroskopie (Gruppe 1), Laparoskopie (Gruppe 2) und Kastration (Gruppe 3) ergab keine statistisch signifikanten Veränderungen innerhalb der Gruppen oder zwischen den Gruppen (s. Diagramm 1). Im Zeitverlauf sank die Pulsfrequenz bei allen Tieren ($p=0,0156$).

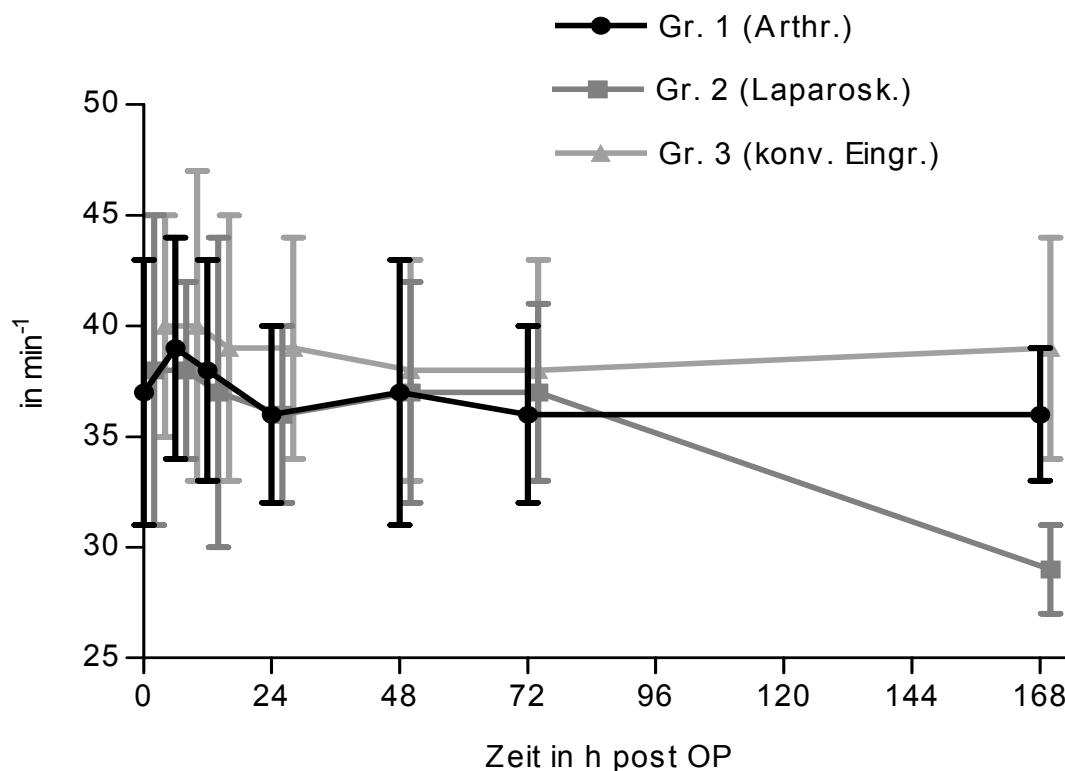


Diagramm 1: Pulsfrequenz der Gruppen 1, 2 und 3 während des Beobachtungszeitraumes. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: $38 \pm 5 \text{ min}^{-1}$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. II.

3.2.4.1.2 Atmung

Die Atemfrequenz der untersuchten Tiere bewegte sich mit wenigen Ausnahmen innerhalb des Referenzbereiches und zeigte sich im Gruppenvergleich unterschiedlich ($p=0,001$), wobei in Gruppe 3 die höchsten Werte zu verzeichnen waren (s. Diagramm 2). Innerhalb der Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede berechnet werden.

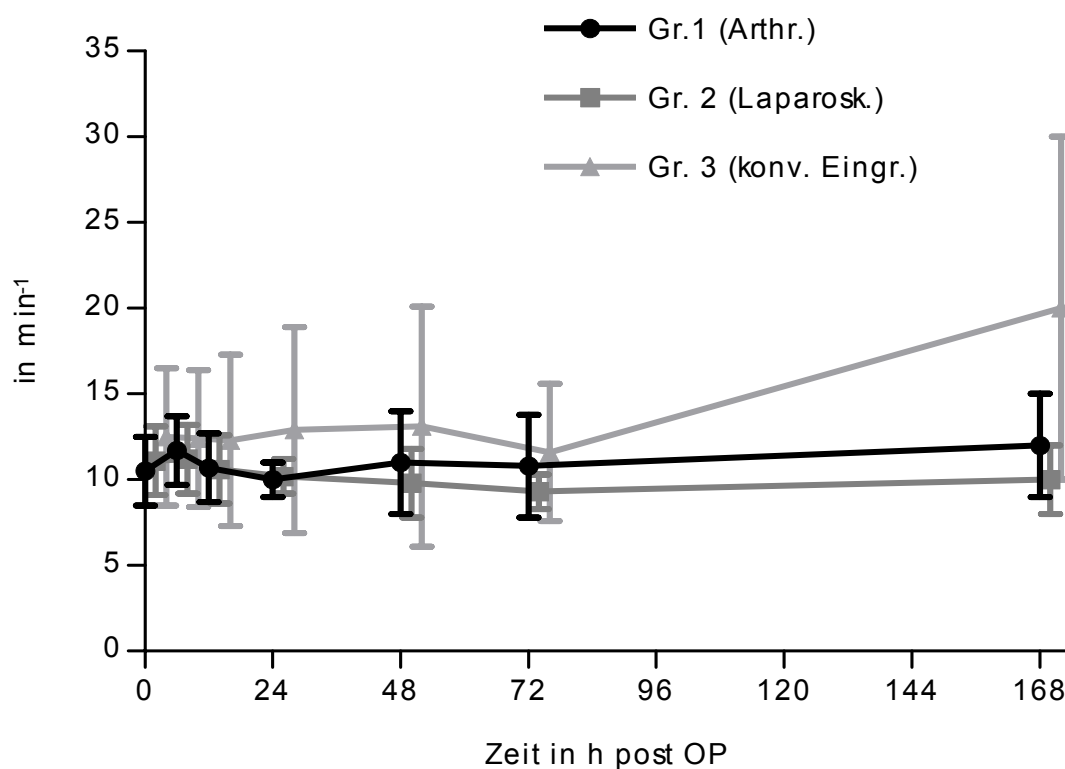


Diagramm 2: Atemfrequenz der Gruppen 1, 2 und 3 während des Beobachtungszeitraumes. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: $14 \pm 4 \text{ min}^{-1}$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. III.

3.2.4.1.3 Körperinnentemperatur

Pferde der Gruppe 1 zeigten innerhalb der ersten 12 Stunden p. OP ($38,1 \pm 0,4$ °C) einen hoch signifikanten ($p < 0,001$) Anstieg der Körperinnentemperatur. Die Körpertemperatur sank zwischen 12 und 48 Stunden p. OP wieder deutlich ab ($p < 0,001$). Dabei überstieg der Mittelwert nie den oberen, aus der Literatur bekannten, Referenzbereich von $38,2^{\circ}\text{C}$. Auch in Gruppe 2 kam es 12 Stunden nach dem Eingriff zu einem klaren Temperaturanstieg ($p < 0,001$; $38,1 \pm 0,6$ °C), welcher dann bereits 48 Stunden nach der Behandlung abnahm ($p < 0,001$). Auch hier stieg der Mittelwert nie über das obere Referenzlimit, wobei in dieser Gruppe Einzeltiere ab 12 Stunden p. OP Körperinnentemperaturen deutlich über 39°C aufwiesen. Ein ähnlicher Verlauf trat in Gruppe 3 auf. Hier war ein signifikanter Anstieg des 12 Stundenwertes messbar ($p < 0,001$), Einzeltiere zeigten eine erhöhte Körperinnentemperatur ($38,2 \pm 0,5$ °C). Der Abfall war nach 48 Stunden nicht so stark ausgeprägt wie in den Gruppen 1 und 2 ($p < 0,05$). In Gruppe 4 waren keine signifikanten Unterschiede der Mittelwerte im Vergleich zum 0-Wert berechenbar, auffallend war aber die Erhöhung der Körperinnentemperatur am 7. Tag p. OP bei über der Hälfte der Tiere in dieser Gruppe ($39,0 \pm 0,7$ °C). Für diesen Parameter konnten sowohl signifikante Gruppen- als auch Zeitunterschiede berechnet werden ($p < 0,0001$; s. Diagramm 3).

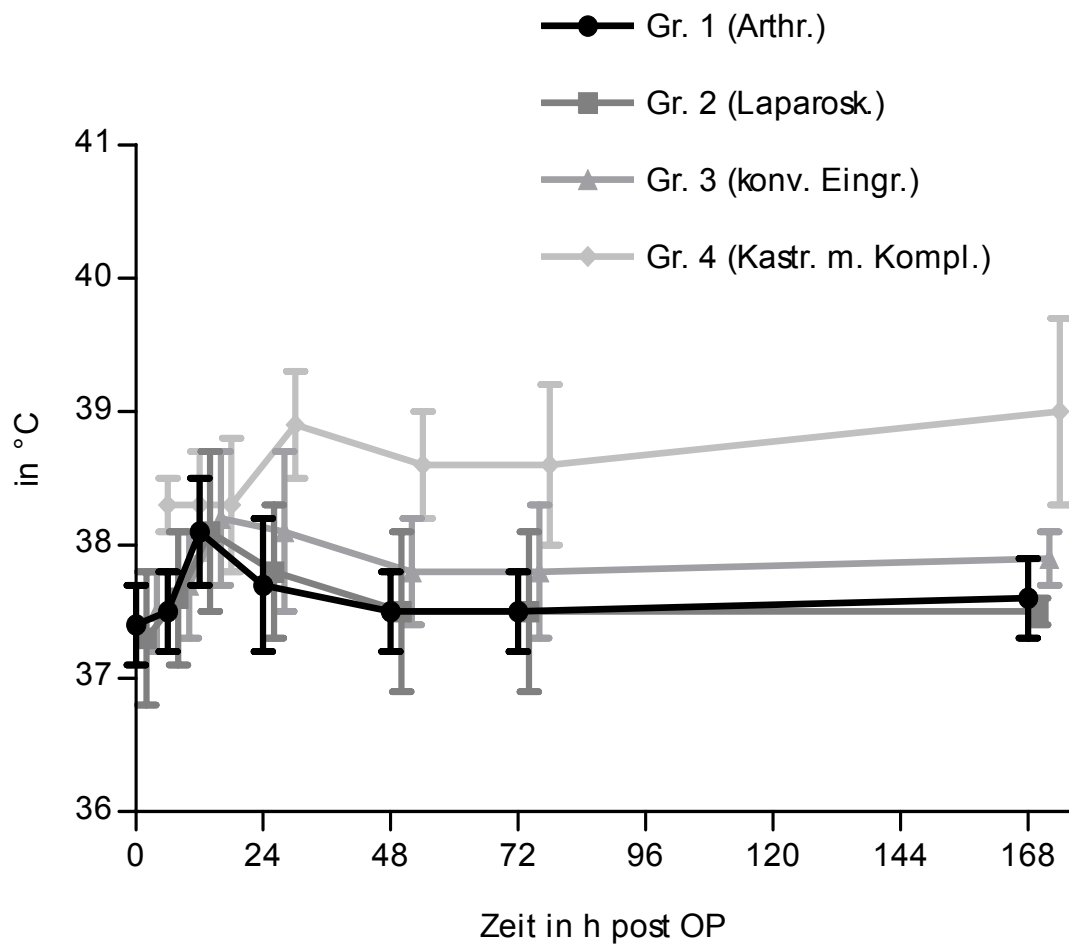


Diagramm 3: Körpertemperatur der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in °C. Referenzgruppe $\bar{x} \pm$ SD: $37,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Absolutwerte siehe Anhang. Tab IV.

3.2.4.2 Spezielle klinische Untersuchung

3.2.4.2.1 Allgemeinbefinden (AB)

In Diagramm 4 ist das Allgemeinbefinden (AB) in den 4 Untersuchungsgruppen dargestellt. Die Pferde der Gruppe 4 zeigten insgesamt häufiger ein gestörtes AB 72 Stunden p. OP als die Pferde der anderen drei Gruppen. Dieser Unterschied war nicht signifikant ($p=0,2560$). Allerdings zeigte die zweifaktorielle Varianzanalyse des Gruppenvergleichs deutliche Änderungen im Zeitverlauf ($p=0,0005$). Mit dem verwendeten Scoring-System war innerhalb der Gruppen im Untersuchungszeitraum keine signifikante Veränderung des AB gegenüber dem Ausgangswert nachweisbar.

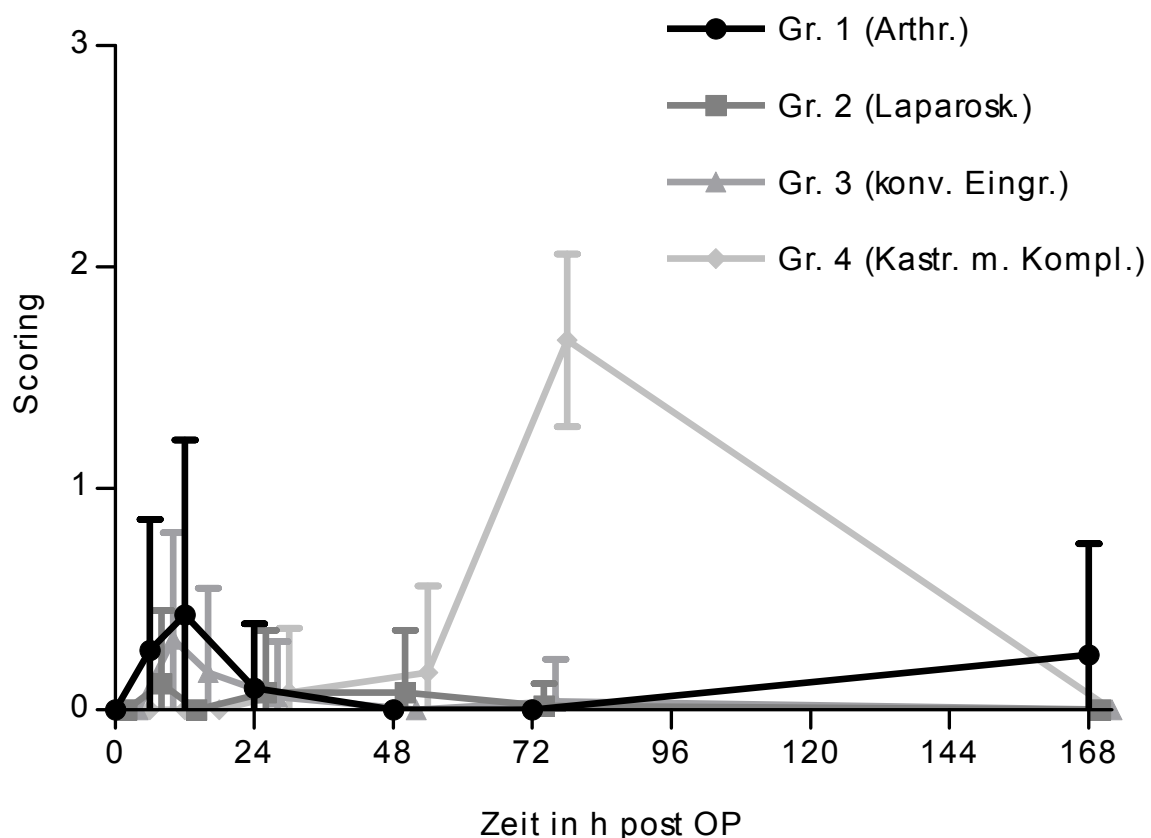


Diagramm 4: Allgemeinbefinden (AB) der Gruppen 1, 2, 3 und 4. Auf der y-Achse sind die Scoring-Werte von 0= ungestört bis 3= hochgradig gestörtes AB aufgetragen.

3.2.4.2.2 Schmerzhaftigkeit

Eine Zunahme der lokalen Schmerzhaftigkeit im Operationsgebiet war in Gruppe 1 innerhalb von 12 Stunden p. OP signifikant ($p < 0,05$). Zwischen den Gruppen war kein Unterschied zu erkennen ($p = 0,4561$), wobei es nach der OP insgesamt zu einem Anstieg der Schmerzhaftigkeit kam ($p < 0,0001$). Dieser Anstieg spielte sich in den ersten 72 Stunden p. OP in den ersten drei Gruppen ab, wohingegen in Gruppe 4 auch zu späteren Zeitpunkten eine erhöhte Schmerzempfindung zu erkennen war. Bei der abschließenden Untersuchung 7 Tage p. OP war nur noch bei Pferden nach konventionell chirurgischen Eingriffen (Gruppe 3) eine geringgradige Schmerzreaktion auslösbar (s. Diagramm 5).

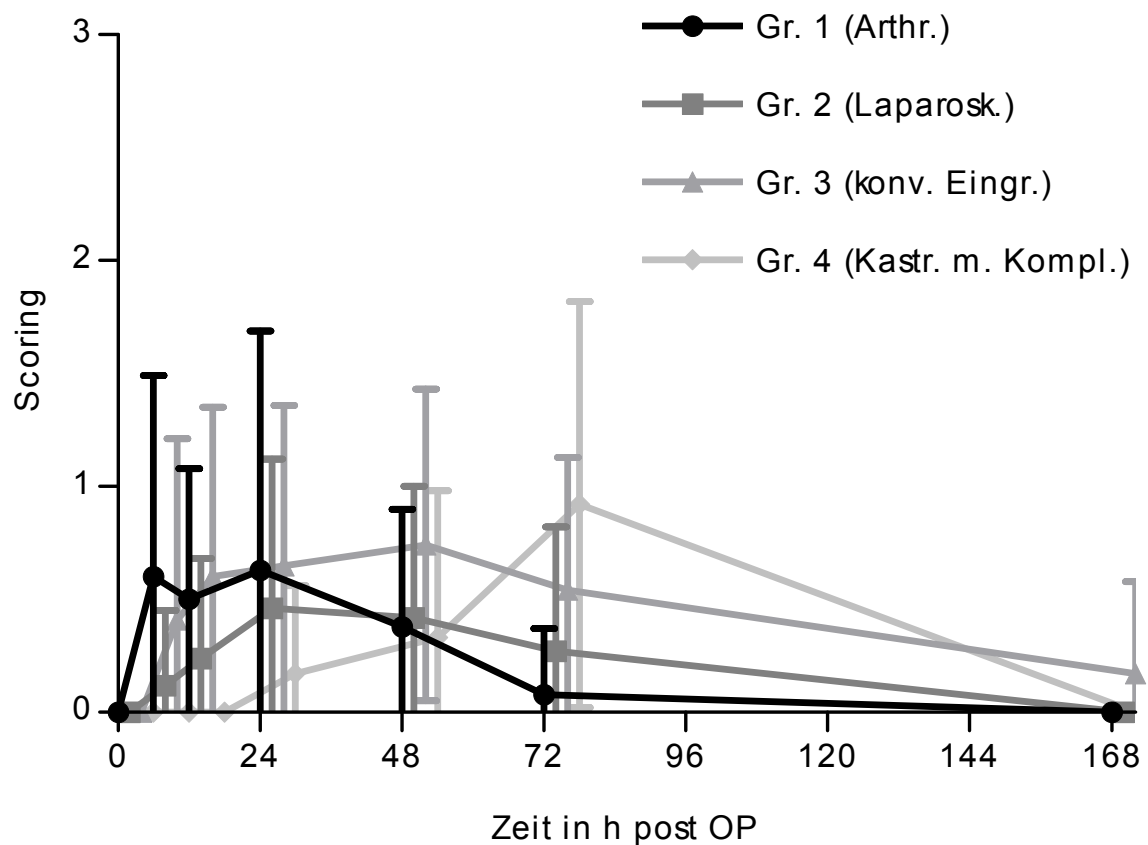


Diagramm 5: Schmerzhaftigkeit der Patienten in Gruppen 1, 2, 3 und 4. Auf der y-Achse sind die Scoring-Werte von 0= keine bis 3= hochgradige Schmerzhaftigkeit aufgetragen.

3.2.4.2.3 Schwellung

Die Schwellung in der Operationsregion nahm in den Gruppen 3 und 4 innerhalb von 48 Stunden p. OP deutlich zu ($p < 0,001$) und hielt bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes nahezu unverändert an. Die Gruppen 1 und 2 zeigten in den ersten 48 Stunden nach der Operation eine Schwellung im Bereich der Hautwunde, allerdings ging diese bis zum 7. Tag p. OP wieder zurück (s. Diagramm 6).

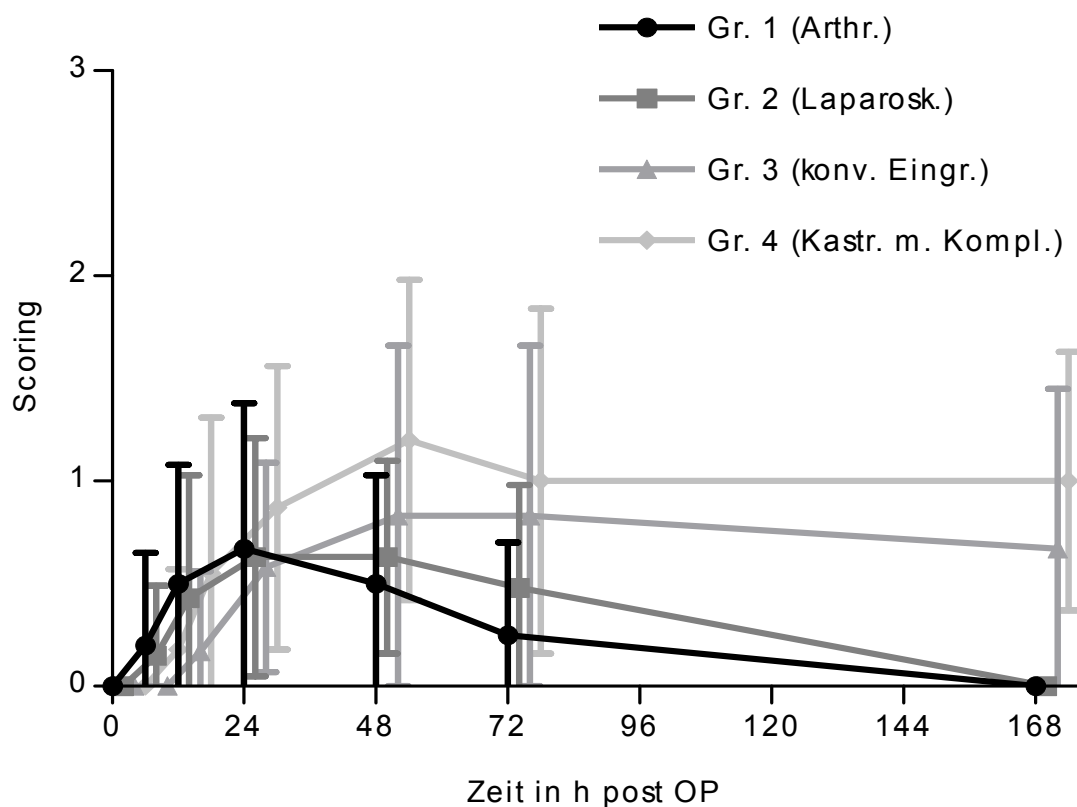


Diagramm 6: Schwellung im Bereich der Operationswunde in den Gruppen 1, 2, 3 und 4. Auf der y-Achse sind die Scoring-Werte von 0= keine bis 3= hochgradige Schwellung aufgetragen.

3.2.4.2.4 Wärme

Die Zunahme der Oberflächentemperatur als Ausdruck der Entzündungsreaktion wies in keiner Gruppe Signifikanzen auf. Allerdings war ein deutlicher Gruppen- und Zeitunterschied erkennbar ($p < 0,00001$). Dabei war die Oberflächentemperatur in Gruppe 4 deutlich höher als in den übrigen Gruppen (s. Diagramm 7).

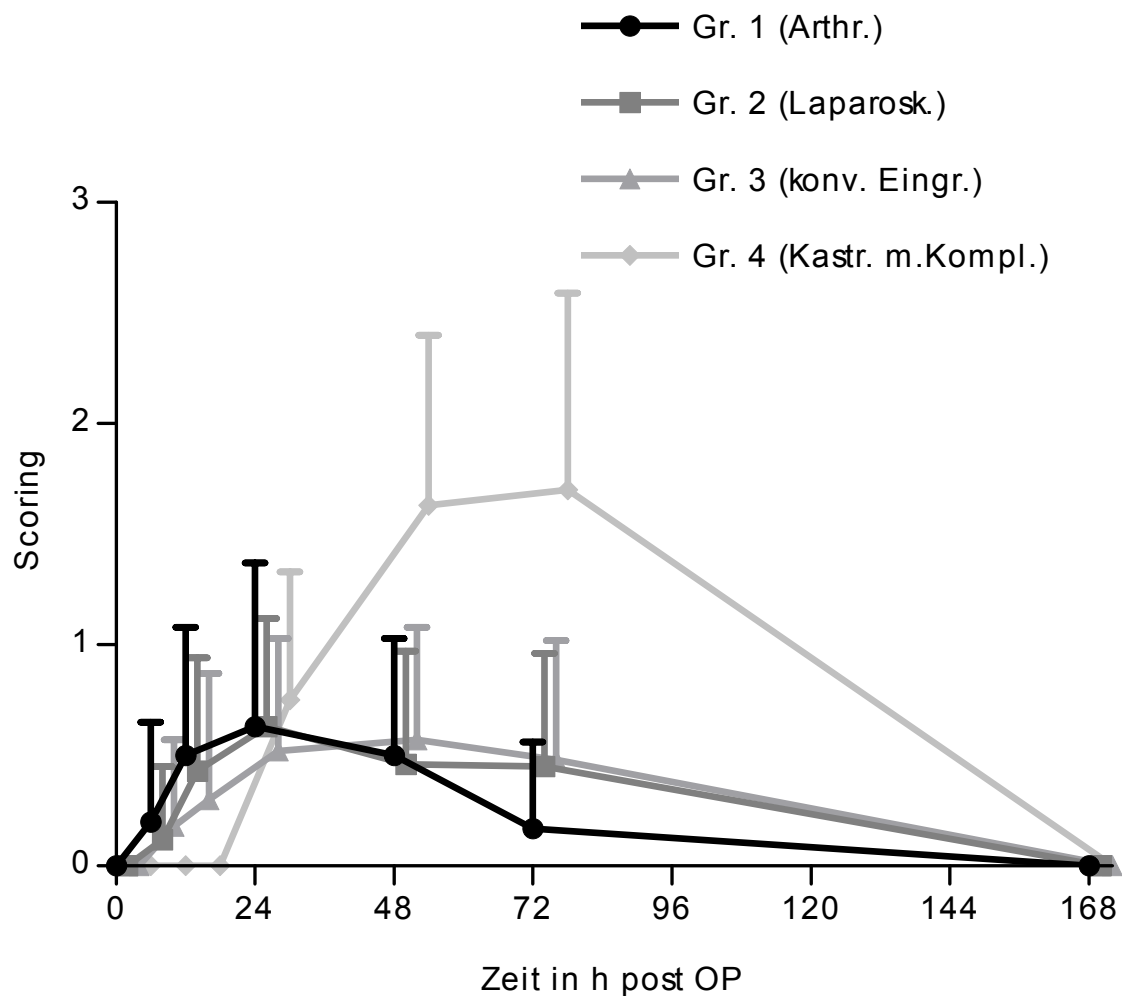


Diagramm 7: Erhöhte Oberflächentemperatur im Bereich der Operationswunde in den Gruppen 1, 2, 3 und 4. Auf der y-Achse sind die Scoring-Werte von 0= keine bis 3= hochgradige Erhöhung aufgetragen.

3.2.4.2.5 Exsudationsmenge und -charakter

Eine lokale Wundexsudation trat bei einigen Probanden der Untersuchungsgruppe 2 und insbesondere der Gruppe 4 auf (s. Diagramm 8). Es bestand ein signifikanter Gruppenunterschied ($p < 0,0001$). Innerhalb von 24 Stunden p. OP war bei einzelnen Patienten der Gruppe 4 bereits Exsudation zu erkennen. Dementsprechend wurde auch bei der Bewertung des Exsudatcharakters ein signifikanter Gruppen- und Zeitunterschied ($p < 0,00001$) beobachtet. Das beobachtete Exsudat in Gruppe 4 war von serösem bis eitrigem Charakter (s. Diagramm 9).

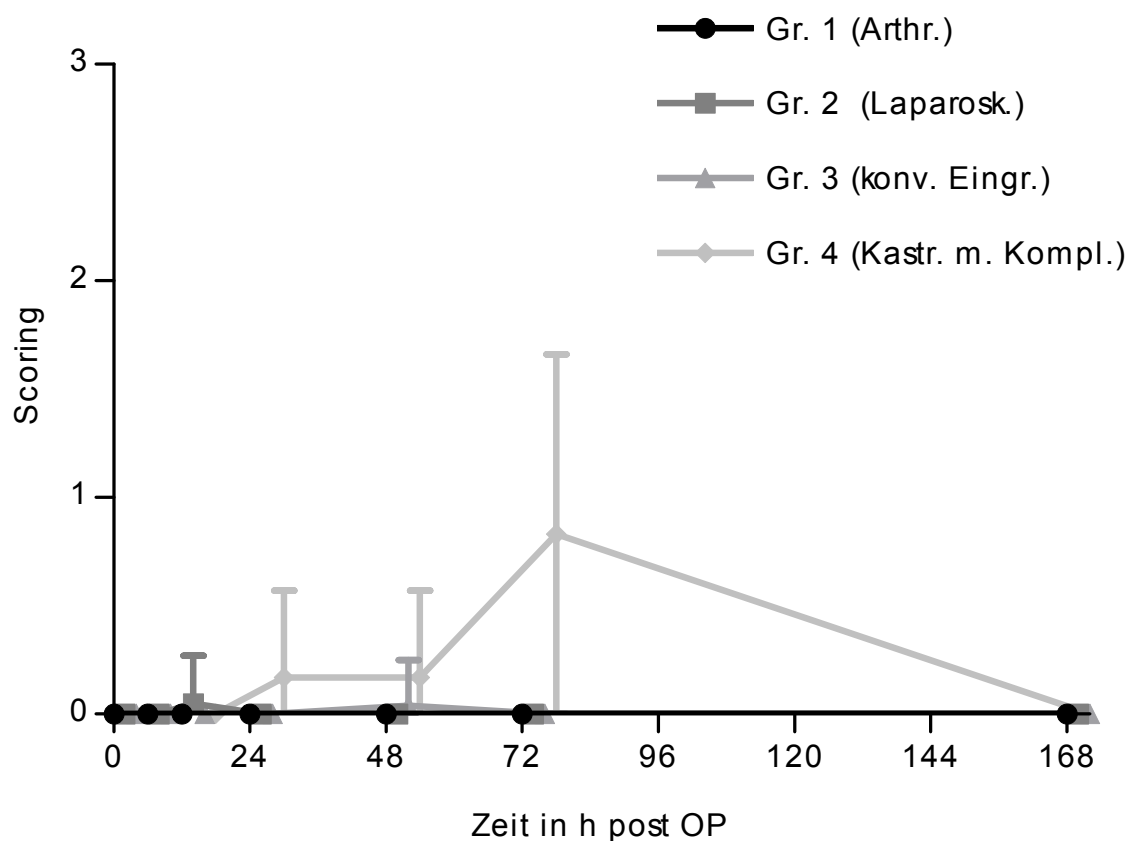


Diagramm 8: Exsudationsmenge im Bereich der Operationswunde in den Gruppen 1, 2, 3 und 4. Auf der y-Achse sind die Scoring-Werte von 0= keine bis 3= hochgradige Exsudation aufgetragen.

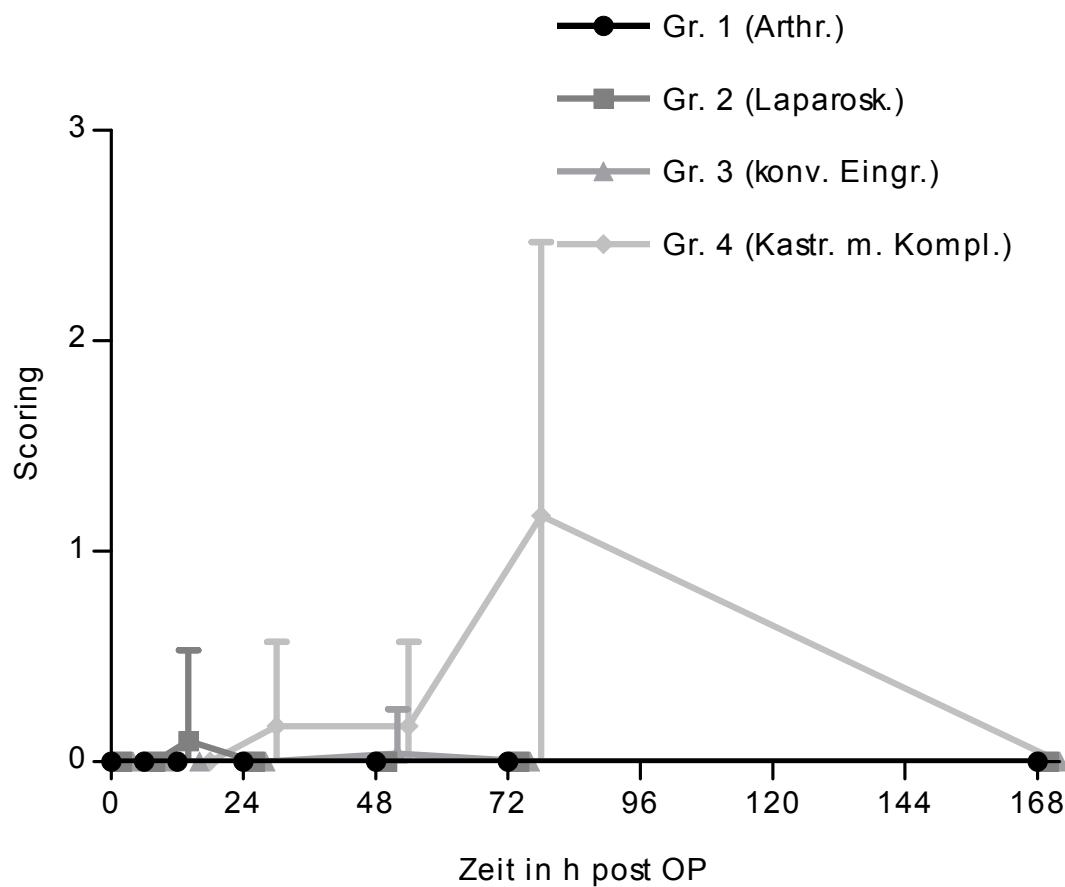


Diagramm 9: Exsudatcharakter im Bereich der Operationswunde in den Gruppen 1, 2, 3 und 4. Auf der y-Achse sind die Scoring-Werte von 0= keine bis 3= putride Exsudation aufgetragen.

3.2.5 Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung

3.2.5.1 Hämatokritwert (HKT)

Nach einem anfänglichen Absinken des HKT in Gruppe 1 war ein Anstieg zwischen 6 und 24 Stunden p. OP offensichtlich ($p < 0,01$). Dabei lag der Mittelwert 6 Stunden p. OP unter dem Referenzbereich des Vet ABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) von 32,0-46,0 L/L. In Gruppe 2 kam es ebenfalls zwischen dem 0-Wert und dem 6 Stundenwert zu einem schwach signifikantem ($p < 0,05$) Abfall des HKT. Die Werte stiegen 12 Stunden p. OP wieder an. Insgesamt lagen die Messpunkte am Ende des Beobachtungszeitraumes hoch signifikant ($p < 0,001$) unter denen des 0-Wertes. Pferde der Gruppe 3 wiesen einen Abfall des HKT innerhalb von 6 Stunden auf ($p < 0,01$) welcher innerhalb 12 Stunden p. OP wieder anstieg. Gruppe 4 zeigte hinsichtlich des HKT keine Signifikanzen auf.

Es waren keine Gruppen- ($p = 0,8974$), sehr wohl aber offensichtliche Zeitunterschiede zu erkennen ($p < 0,0001$). Berechnete man den Verlauf der HKT-Resultate für alle Pferde gemeinsam, zeigte sich folgendes Bild. Der Abfall des HKT während bzw. nach der Operation war hoch signifikant ($p < 0,001$), zeigte dann einen leichten Anstieg zwischen 12 und 48 Stunden p. OP und befand sich im Mittel am 7. Tag unter dem arithmetischen Mittelwert der zu Beginn der Untersuchung gemessen wurde (0-Wert) (s. Diagramm 10).

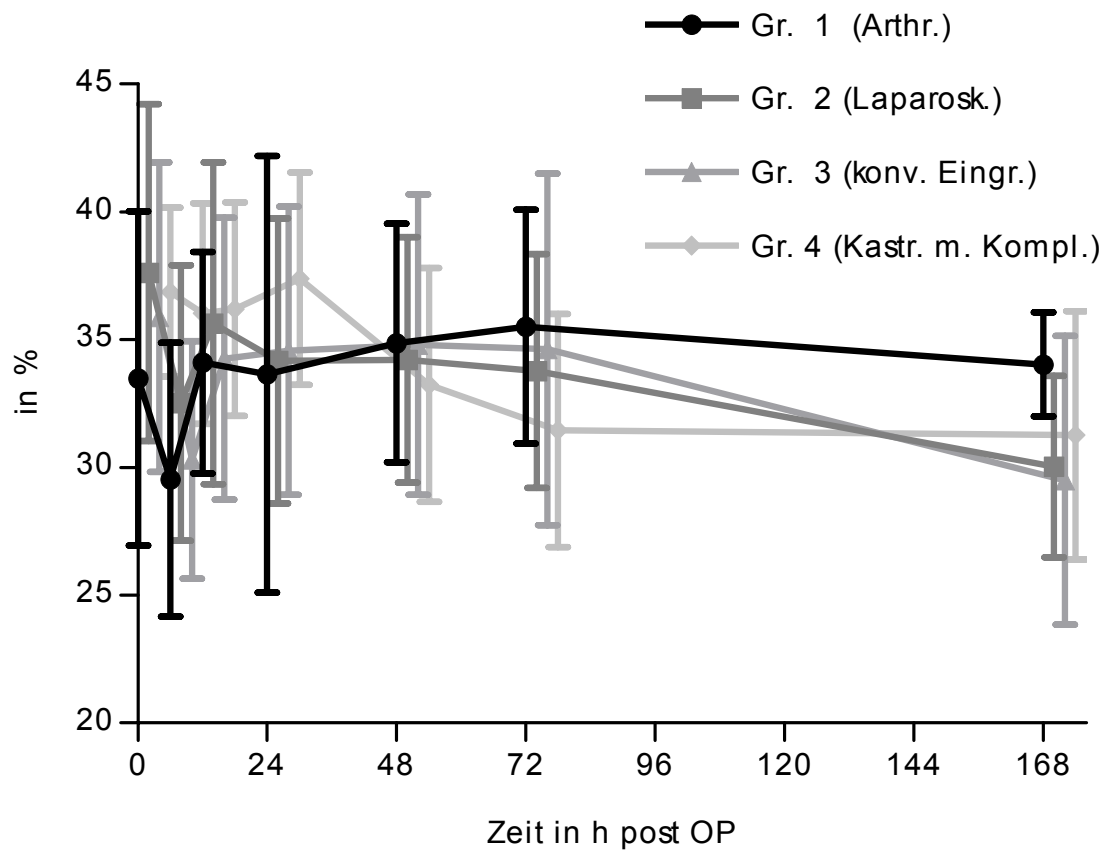


Diagramm 10: Darstellung des HKT in % für die Gruppen 1, 2, 3 und 4. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: $33,2 \pm 4,5$ %. Absolutwerte siehe Anhang Tab. V).

3.2.5.2 Gesamtleukozytenzahl (WBC-Count)

Die Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl (WBC-Count) offenbarte in der Gruppe 1 einen starken Anstieg innerhalb der ersten 12 Stunden ($p < 0,001$), der sich in den folgenden 12 Stunden (bis 24 Stunden p. OP; $8,57 \pm 2,24 \times 10^9/L$) fortsetzte (s. Diagramm 11). Ab 48 Stunden p. OP war ein Absinken des WBC-Counts zu erkennen. Der WBC-Count dieser Gruppe überstieg im Beobachtungszeitraum aber nie das obere Referenzlimit. Bei den Pferden in Gruppe 2 kam es ebenfalls innerhalb von 12 Stunden p. OP zu einem signifikanten Anstieg des WBC-Count ($p < 0,01$). Der WBC-Count bewegte sich bis 48 Stunden p. OP mit einigen Ausnahmen auf einem erhöhten Niveau innerhalb des Referenzbereiches (48 Stunden p. OP $8,2 \pm 2,25 \times 10^9/L$). Daraufhin war eine deutliche Abnahme bis hin zum 7. Tag erkennbar (12 / 24 Stunden p. OP \leftrightarrow 7.Tag p. OP $p < 0,001$). Einen signifikanten Anstieg innerhalb der ersten 12 Stunden ($p < 0,001$) und einen ebensolchen Abfall (24 Stunden p. OP \leftrightarrow 72 Stunden p. OP $p < 0,001$) zeigten Pferde der Gruppe 3. Hierbei wurden 24 Stunden p. OP die höchsten Werte gemessen, wobei der Mittelwert am oberen Referenzlimit lag ($10,04 \pm 2,58 \times 10^9/L$). In Gruppe 4 war schon zu Beginn der Beobachtungen eine leichte Erhöhung des WBC-Count zu erkennen ($10,94 \pm 1,59 \times 10^9/L$). Das Verhältnis von neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten (N:L) des 0-Wertes war in dieser Gruppe 1,3:1 (mit Hilfe eines manuell ausgezählten Differenzialblutbildes bestimmt). Auch in dieser Gruppe war eine Erhöhung innerhalb der ersten 12 Stunden p. OP zu erkennen ($p < 0,01$; $14,89 \pm 2,46 \times 10^9/L$), die über den 72 Stundenwert p. OP anhielt.

Beim Vergleich der Gruppen untereinander war ein Anstieg der Leukozytenzahl in den Gruppen 1, 2 und 3 zwischen 12 und 48 Stunden p. OP zu sehen, wobei die Referenzwerte nicht überschritten wurden. Danach kam es zum Absinken des WBC-Counts auf den Ausgangsmittelwert. Demgegenüber zeigte der WBC-Count in der Gruppe 4 einen Anstieg über den physiologischen Referenzwert hinaus in gesamten Beobachtungszeitraum. Der WBC-Count war in dieser Gruppe auch nach Abschluss des Untersuchungszeitraumes noch nicht im physiologischen Bereich.

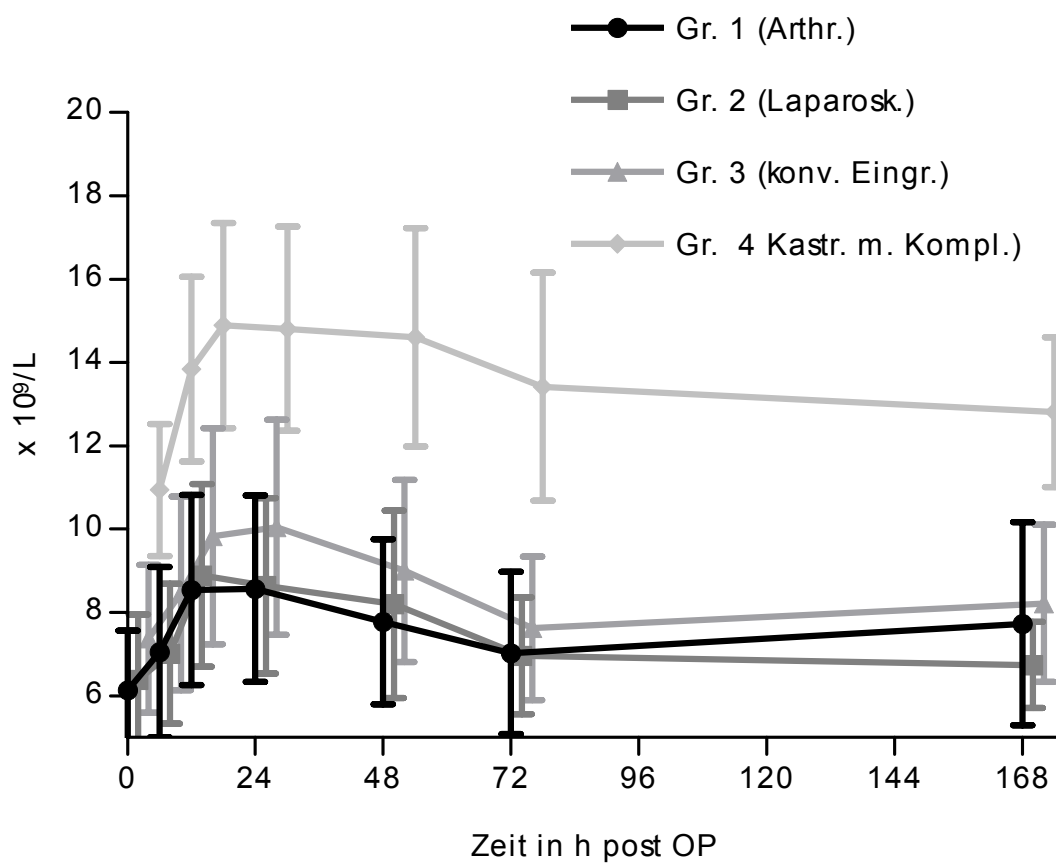


Diagramm 11: WBC-Count der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/L$. Referenzgruppe $\bar{x} \pm SD$: $8,03 \pm 1,34 \times 10^9/L$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. VII.

3.2.5.3 Differenzialblutbild

3.2.5.3.1 Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG)

In allen vier Gruppen war ein deutlicher Anstieg der PNG innerhalb der ersten 12 Stunden p. OP ($p < 0,001$) zu beobachten. Die absolute PNG-Zahl war allerdings bei Gruppe 4 im Vergleich mit den drei anderen Gruppen während des gesamten Beobachtungszeitraums deutlich höher ($p < 0,0001$), der Mittelwert des 0-Wertes lag noch im Referenzbereich ($6,7 \pm 1,2 \times 10^9/L$). Die drei anderen Gruppen hatten dabei fast identische Werte. Die absolute Zahl der PNG sank in Gruppe 1 ($p < 0,01$) und Gruppe 2 ($p < 0,001$) ab dem 48 Stundenwert, während in Gruppe 3 die Abnahme 72 Stunden p. OP stattfand. Zweiundsiebzig Stunden p. OP waren die Ausgangswerte nahezu wieder erreicht. Dies galt nicht für die Gruppe 4. In dieser Gruppe war die absolute PNG-Zahl auch noch am 7. Tag p. OP erhöht und außerhalb des physiologischen Referenzbereichs (s. Diagramm 13; $9,1 \pm 1,7 \times 10^9/L$).

Bei den Pferden in Gruppe 1 stieg die PNG-Zahl innerhalb von 12 Stunden bis zum Referenzlimit ($7,0 \pm 2,2 \times 10^9/L$). Höhere Werte waren in Gruppe 2 und 3 sowie besonders in Gruppe 4 messbar (s. Diagramm 12). Prüft man die Konzentrationsänderungen der vier Gruppen untereinander, so verliefen sie in den Gruppen 1, 2 und 3 relativ konform, während in Gruppe 4 schon vor der Operation höhere Zellzahl gemessen wurden, die dann stärker anstiegen als die der anderen Gruppen ($p = 0,0001$). Der Zeitunterschied war in allen vier Gruppen signifikant ($p > 0,00001$).

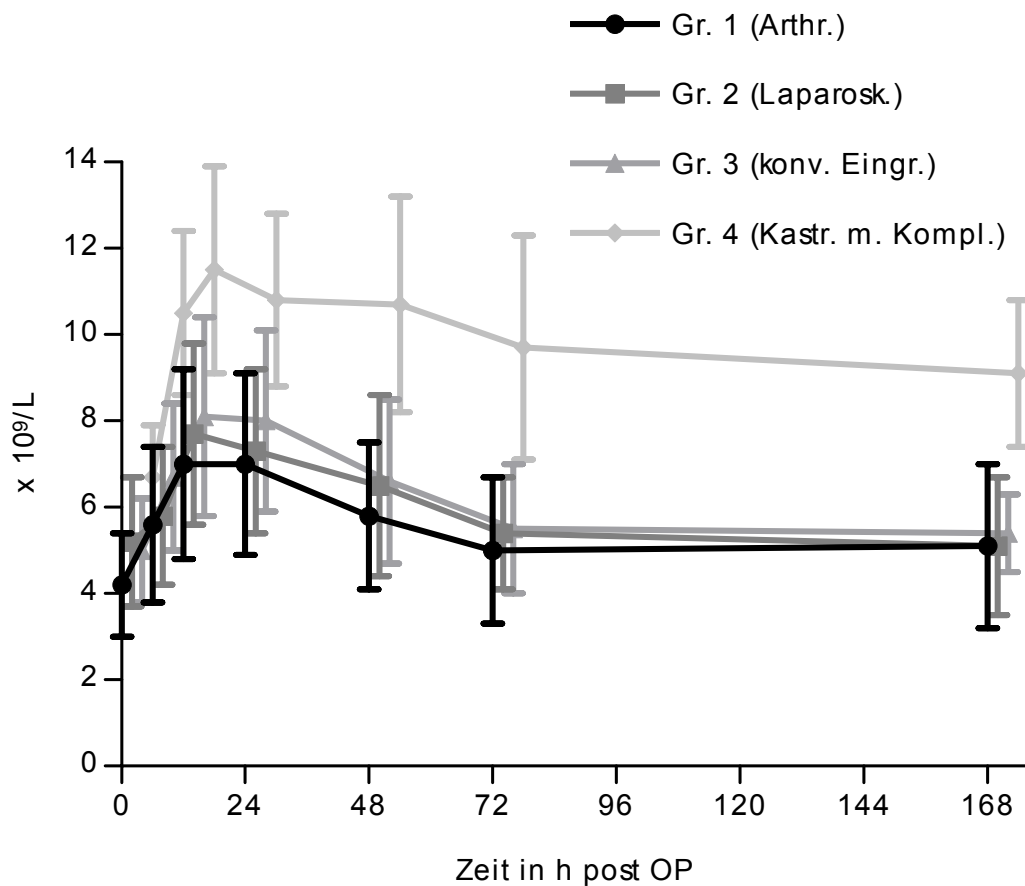


Diagramm 12: PNG der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/L$. Referenzgruppe $\bar{X} \pm SD$: $5,5 \pm 1,3 \times 10^9/L$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. VIII.

Die Erstellung eines manuellen Differenzialblutbildes zeigte sowohl für die segmentkernigen als auch die stabkernigen neutrophilen Granulozyten deutliche Schwankungen innerhalb des Beobachtungszeitraumes.

Segmentkernige neutrophile Granulozyten stiegen in Gruppe 4 innerhalb von 6 Stunden p. OP signifikant an ($p < 0,001$), gefolgt von Gruppe 1 ($p < 0,001$), 2 ($p < 0,001$) und 3 ($p < 0,001$). Im Gruppenvergleich zeigten sich sowohl Gruppen- als auch Zeitunterschiede ($p < 0,0001$), wobei der absolute Anteil segmentkerniger neutrophiler Granulozyten in Gruppe 4 deutlich höher war als in den übrigen 3 Gruppen (s. Diagramm 13).

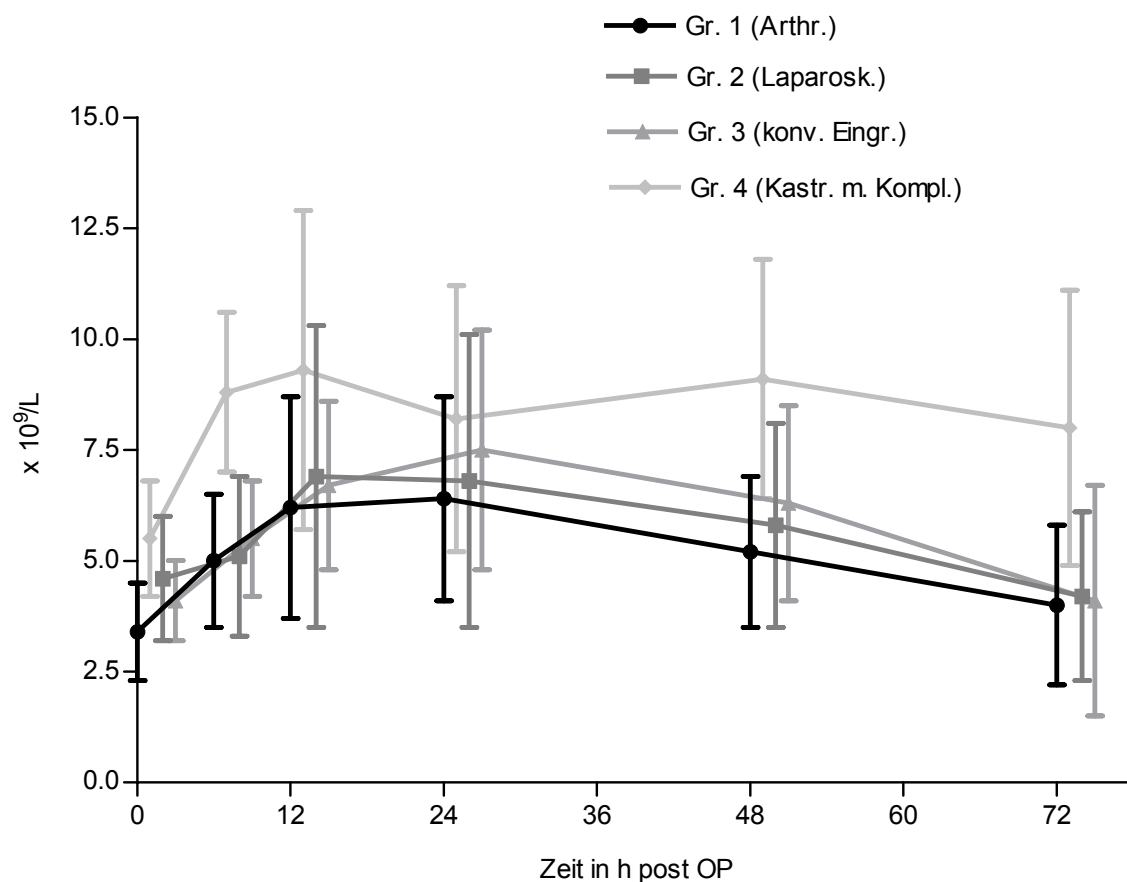


Diagramm 13: segmentkernige neutrophile Granulozyten der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^6$ /L. Absolutwerte siehe Anhang Tab. IX.

Der absolute Anteil stabkerniger neutrophiler Granulozyten erhöhte sich innerhalb von 6 Stunden p. OP in den Gruppen 1 ($p < 0,05$), 2 ($p < 0,001$) und 3 ($p < 0,01$). In Gruppe 4 war 12 Stunden p. OP ein Anstieg erkennbar ($p < 0,05$). Es waren auch deutliche Gruppen- und Zeitunterschiede berechenbar ($p < 0,0001$). Gruppe 1 zeigte dabei die niedrigsten Werte, wohingegen Gruppe 2 und 4 die höchsten Werte

aufwies. In Gruppe 2 und 4 lagen die Mittelwerte 12 Stunden p. OP über $600 \times 10^6/L$. Damit kann man in Gruppe 2 von einer Linksverschiebung 12 Stunden nach der Laparoskopie und in Gruppe 4 6 und 12 Stunden nach Kastration zu sprechen (s. Diagramm 14).

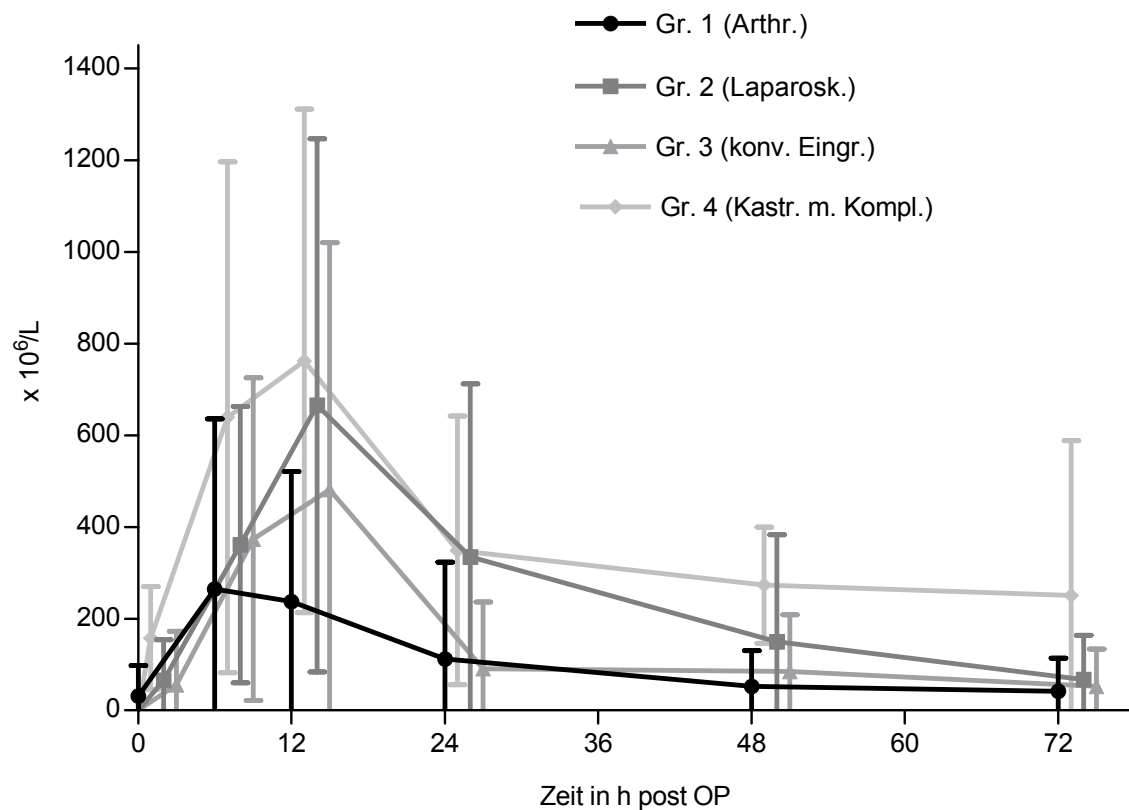


Diagramm 14: stabkernige neutrophile Granulozyten der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $x \cdot 10^6/L$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. X.

3.2.5.3.2 Lymphozyten

In den Gruppen 1, 2 und 3 verliefen die Konzentrationsänderungen fast gleichförmig auf einem Niveau. Ein hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) war zwischen den genannten Gruppen und der Gruppe 4 zu erkennen. In der Gruppe 1 kam es innerhalb von 6 Stunden zu einer deutlichen Abnahme der zirkulierenden Lymphozyten ($p < 0,01$; $1,2 \pm 0,5 \times 10^9/L$). Achtundvierzig Stunden p. OP zeigte sich dann ein Anstieg, die Ausgangswerte wurden erreicht. Die Werte in Gruppe 2 nahmen innerhalb von 12 Stunden p. OP deutlicher ab ($p < 0,001$; $0,9 \pm 0,3 \times 10^9/L$),

wohingegen der Anstieg 24 Stunden p. OP nur schwach signifikant ($p < 0,05$) war. In dieser Gruppe war 6 Stunden p. OP eine Lymphopenie erkennbar. Einen ähnlichen Verlauf nahmen die Kurven der Gruppen 3 und 4. Allerdings wies Gruppe 4 nur eine niedrige Signifikanz (12 Stunden p. OP $p < 0,05$; $2,6 \pm 0,6 \times 10^9/L$) auf. Zum Zeitpunkt 0 war in der Gruppe 4 eine Lymphozytose messbar ($3,6 \pm 0,7 \times 10^9/L$). Der Gruppenvergleich zeigte eindeutige Unterschiede ebenso wie Zeitunterschiede ($p < 0,00001$), wobei die Gruppe 4 auf einem deutlich höheren Niveau lag als die drei anderen Gruppen (s. Diagramm 15).

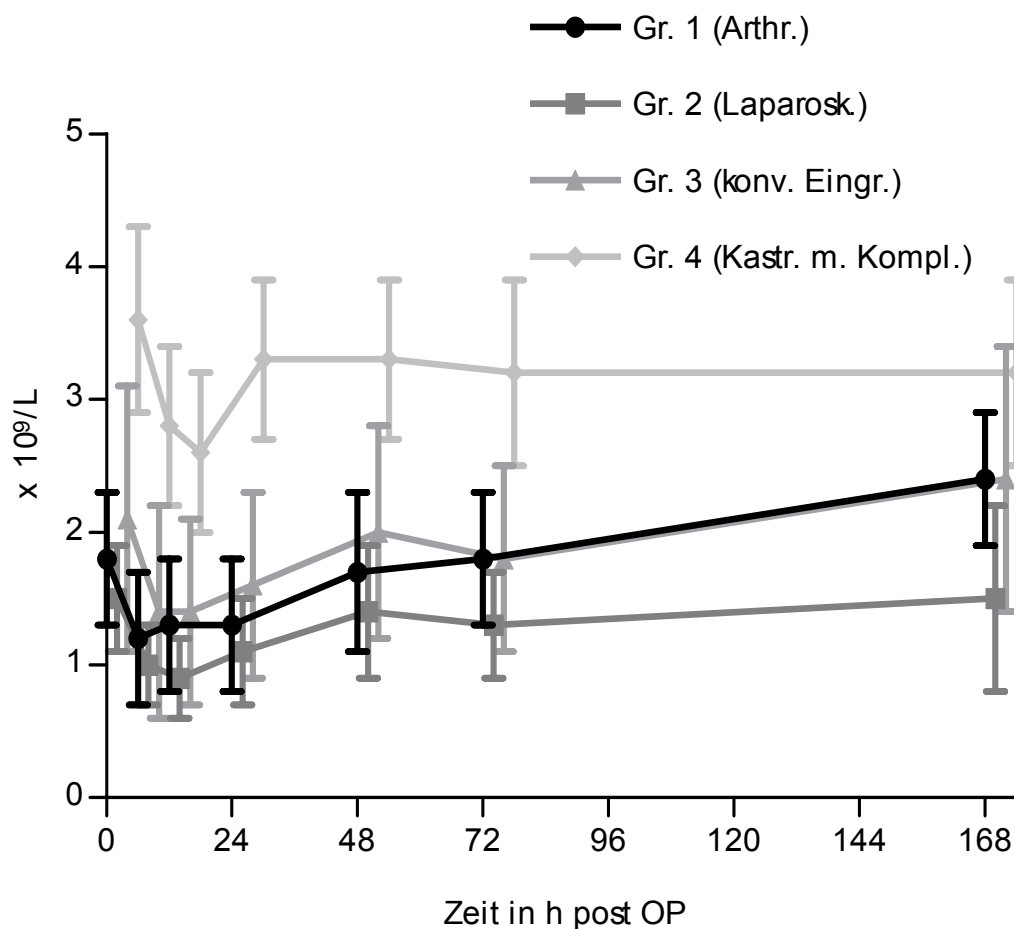


Diagramm 15: Lymphozytenzahl der Gruppen 1, 2, 3 und 4 nach dem operativen Eingriff in $\bar{x} \pm SD$: $2,2 \pm 0,8 \times 10^9/L$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XI.

3.2.5.3.3 Monozyten

Die Bestimmung der Monozytenzahl ergab nur in Gruppe 3 signifikante Unterschiede innerhalb von 24 Stunden p. OP ($p < 0,05$). In diesem Zeitraum stiegen die Werte leicht an (s. Diagramm 16). Vergleicht man die Gruppen miteinander, so ergaben sich große Differenzen zwischen der Gruppe 4 und den anderen Gruppen ($p < 0,001$). Die Schwankungen der Monozytenzahl in den anderen Gruppen waren nicht signifikant. Außer Gruppe 1 und 2 unterschieden sich alle Gruppen untereinander ($p < 0,00001$).

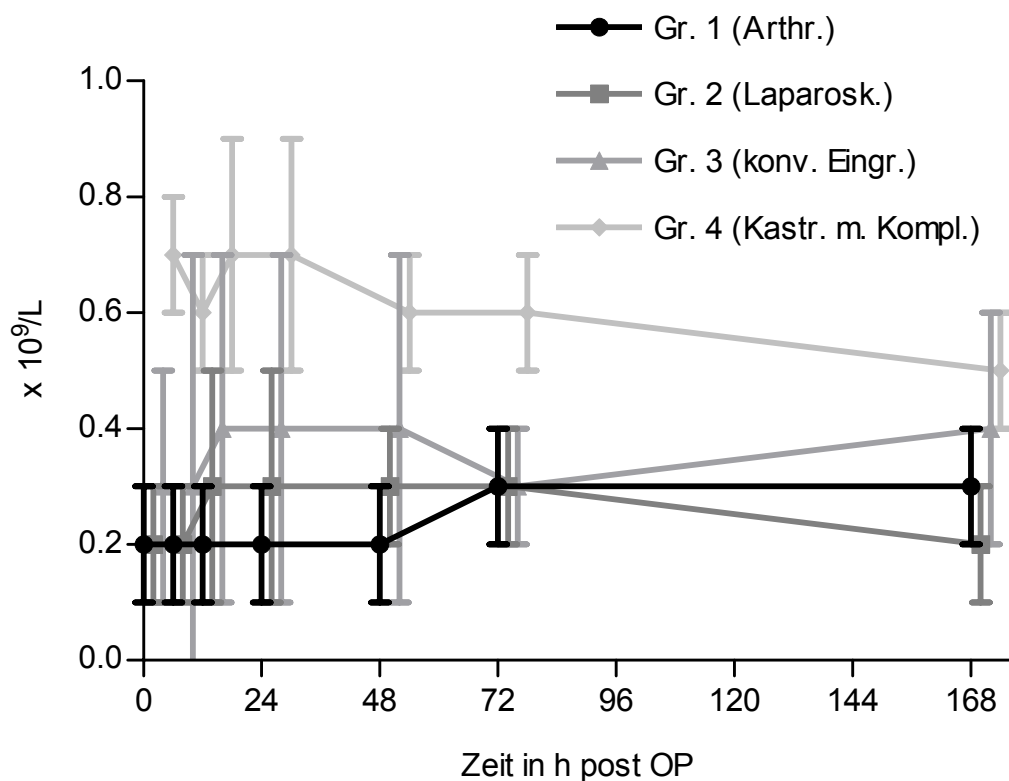


Diagramm 16: Monozytenzahl der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/L$. Referenzgruppe $\bar{x} \pm SD$: $0,3 \pm 0,1 \times 10^9/L$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XII.

3.2.5.4 Thrombozyten (PLT)

Die Bestimmung der Thrombozyten (PLT) ergab für die Gruppen 1, 2 und 3 keine signifikanten Konzentrationsveränderungen im Beobachtungszeitraum (s. Diagramm 17). In Gruppe 4 stiegen die Werte innerhalb der ersten 6 Stunden an ($202 \pm 46,7 \times 10^9/L$), um dann zwischen 6 Stunden und 72 Stunden p. OP deutlich abzufallen ($p < 0,01$). Die Differenz zwischen den Gruppen war mit Ausnahme der Gruppen 1 und 2 eindeutig ($p < 0,0001$). Diese beiden Gruppen wiesen sich durch praktisch identische Resultate aus. Gruppenunterschiede präsentierten sich eindeutig signifikant ($p = 0,0001$) und im Beobachtungszeitraum kam es ebenfalls zu deutlichen Veränderungen ($p = 0,0002$).

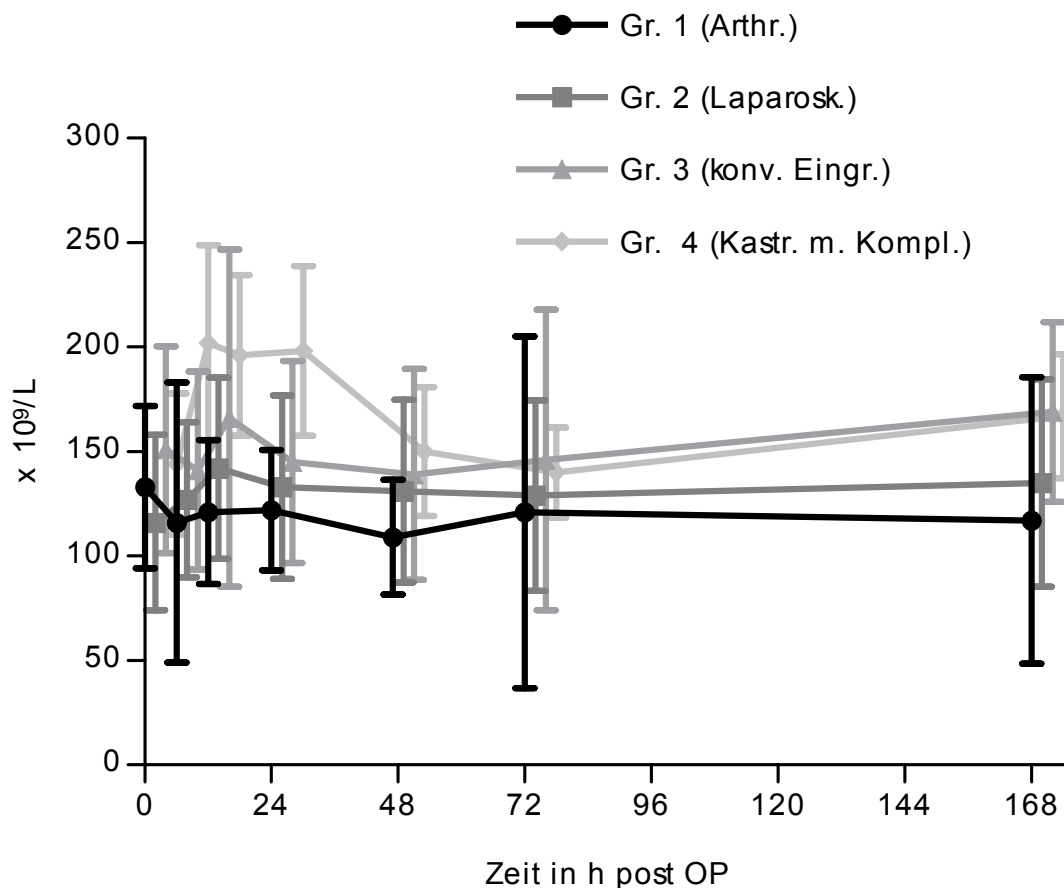


Diagramm 17: PLT der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $x \cdot 10^9/L$. Referenzgruppe $\bar{x} \pm SD$: $121 \pm 45 \times 10^9/L$. Absolutwerte siehe Anhang Tab. VI.

3.2.6 Ergebnisse der Proteinbestimmung

3.2.6.1 Interleukin-6 (IL-6)

Die Interleukin-6 (IL-6) Bestimmung mittels des Bioassays wurde aus Kosten- und Zeitgründen nur bei den jeweils ersten 10 Tieren der Gruppen 1, 2, 3 sowie bei 6 Wallachen der Referenzgruppe durchgeführt. Mittelwert und Standardabweichung der 6 gesunden Wallache betrugen $60,9 \pm 3,2$ IU/ml.

Maximalwerte traten in Gruppe 2 auf (s. Diagramm 18). IL-6 war bei den meisten Patienten dieser Gruppe im Heparinplasma 6 ($780,2 \pm 664,6$ IU/ml) bzw. 12 ($537,5 \pm 162,1$ IU/ml) Stunden p. OP um das 30 fache des Ausgangswertes erhöht und sank bis 48 ($110,8 \pm 50,5$ IU/ml) Stunden p. OP wieder auf die Ausgangswerte ab. In den beiden anderen Gruppen verdoppelten sich die IL-6 Werte. Die drei Gruppen unterschieden sich in der zweifaktoriellen Varianzanalyse sehr deutlich untereinander. Dabei waren die Konzentrationssteigerungen in Gruppe 2 am deutlichsten. Die Resultate dieser Gruppe unterschieden sich von denen der Gruppen 1 und 3 signifikant ($p < 0,0001$ bzw. $p < 0,001$).

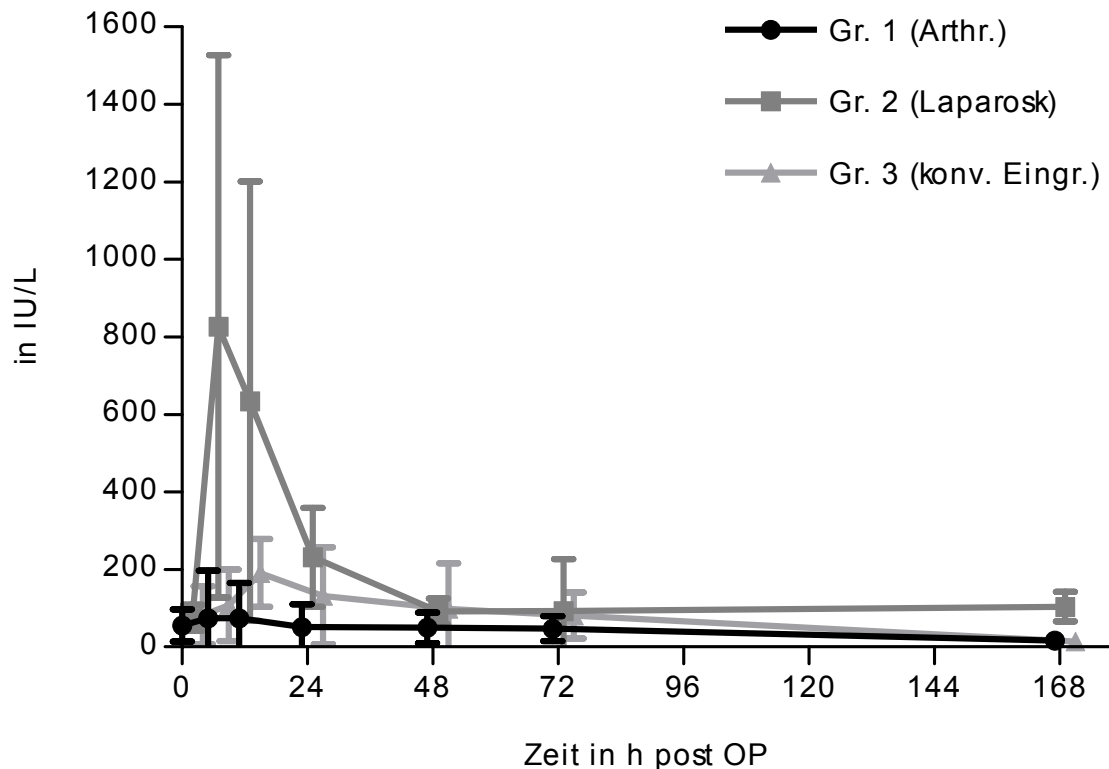


Diagramm 18: Interleukin-6 der Gruppen 1, 2 und 3 in IU/L. IL-6-Werte der 6 gesunden Wallache $\bar{x} \pm \text{SD}$: $60,9 \pm 3,2$ IU/L. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XX.

3.2.6.2 Totalplasmaprotein (TPP)

Gruppe 1 zeigte sinkende Gehalte an Totalplasmaprotein (TPP) im Blut, wobei zwischen 6 und 12 Stunden p. OP schon wieder ein leichter Anstieg zu verzeichnen war. Dieser leichte Abfall nach 6 Stunden und das Einpendeln auf den Ausgangswert 12 Stunden p. OP war auch in Gruppe 2 zu erkennen, allerdings konnten keine Signifikanzen berechnet werden. Die Proteinkonzentration im Plasma von Pferden der Gruppe 3 unterschied sich von den Vorherigen insofern, dass es zu einem eindeutigen Anstieg ($p < 0,001$) innerhalb von 12 Stunden p. OP ($72,2 \pm 7$ g/L) kam, wobei das obere Referenzlimit vom Mittelwert nicht überschritten wurde. Gruppe 4 wies innerhalb von 6 Stunden einen mittleren Plasmaproteingehalt auf, der den Referenzbereich überstieg ($76,7 \pm 3,7$ g/L). Signifikant unterschied sich der Plasmaproteingehalt vom 0-Wert innerhalb von 24 Stunden ($p < 0,05$). In dieser Gruppe war auch der Ausgangswert deutlich niedriger als der letzte gemessene Wert

am 7.Tag ($p<0,01$; $78,8 \pm 5,3$ g/L). Vergleicht man die Gruppen untereinander, so zeigten sich eindeutige Gruppen- und Zeitunterschiede ($p<0,0001$; s. Diagramm 19).

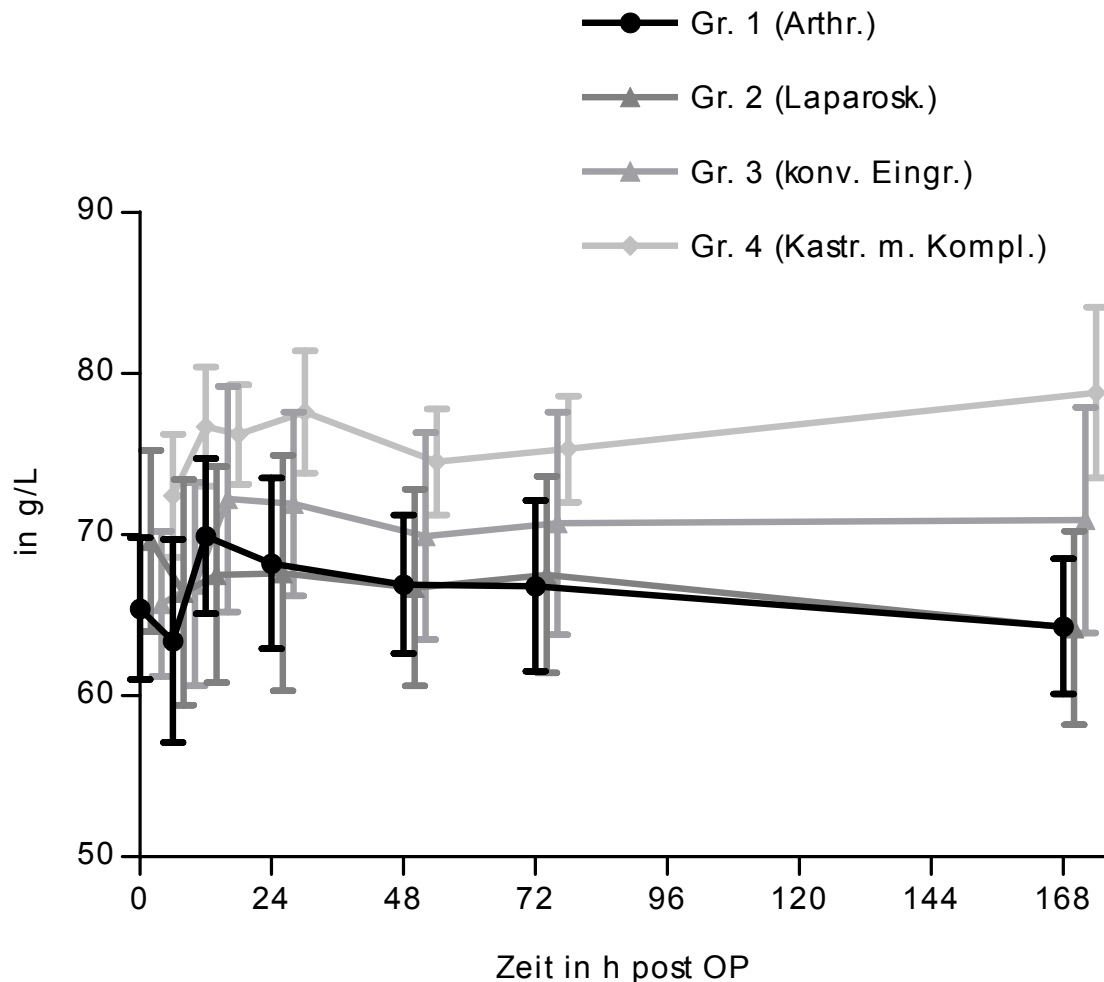


Diagramm 19: TPP der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in g/L. TPP der Referenzgruppe $\bar{x} \pm$ SD: 67 ± 5 g/L. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XIII.

3.2.6.3 Albumin

In Gruppe 1 bewirkte die Operation einen Konzentrationsanstieg des Albumins zwischen 6 ($32,4 \pm 2,7$ g/L) und 12 ($36,1 \pm 2,7$ g/L) Stunden p. OP ($p<0,01$), so dass am Ende der Studie eine Erhöhung des Serumspiegels um 1% im Vergleich zum Ausgangswert feststellbar war. Gruppe 2 zeigte eine Abnahme der Albuminkonzentration im Plasma zum 7. Tag hin ($p<0,05$; $26,1 \pm 7$ g/L). Das entspricht einer Abnahme um 22% vom Ausgangswert. Hoch signifikant sank das gemessene Albumin zwischen der 12. Stunde ($35,2 \pm 5,2$ g/L) und dem 7. Tag ($28,1 \pm$

4,9 g/L) p. OP ($p < 0,001$) in Gruppe 3. Das bedeutet eine Abnahme um 13%. Kastrationen mit Komplikationen wiesen keine Signifikanz in ihrer Albuminkonzentration auf, wobei eine ansteigende Tendenz zu verzeichnen war. Am 7. Tag p. OP befanden sich die Werte dann wieder auf dem Ausgangsniveau ($32,6 \pm 2,8$ g/L). Vergleicht man die Gruppen untereinander so ist kein Unterschied zwischen den Gruppen, aber über die Zeit zu berechnen. Innerhalb der ersten 12 Stunden zeigte sich eine geringgradige Zunahme. Während in Gruppe 2 und 3 die Albuminkonzentration bis zum 7. Tag p. OP sank, gelangte sie in Gruppe 1 und 4 am 7. d p. OP wieder zum Ausgangswert zurück (s. Diagramm 20).

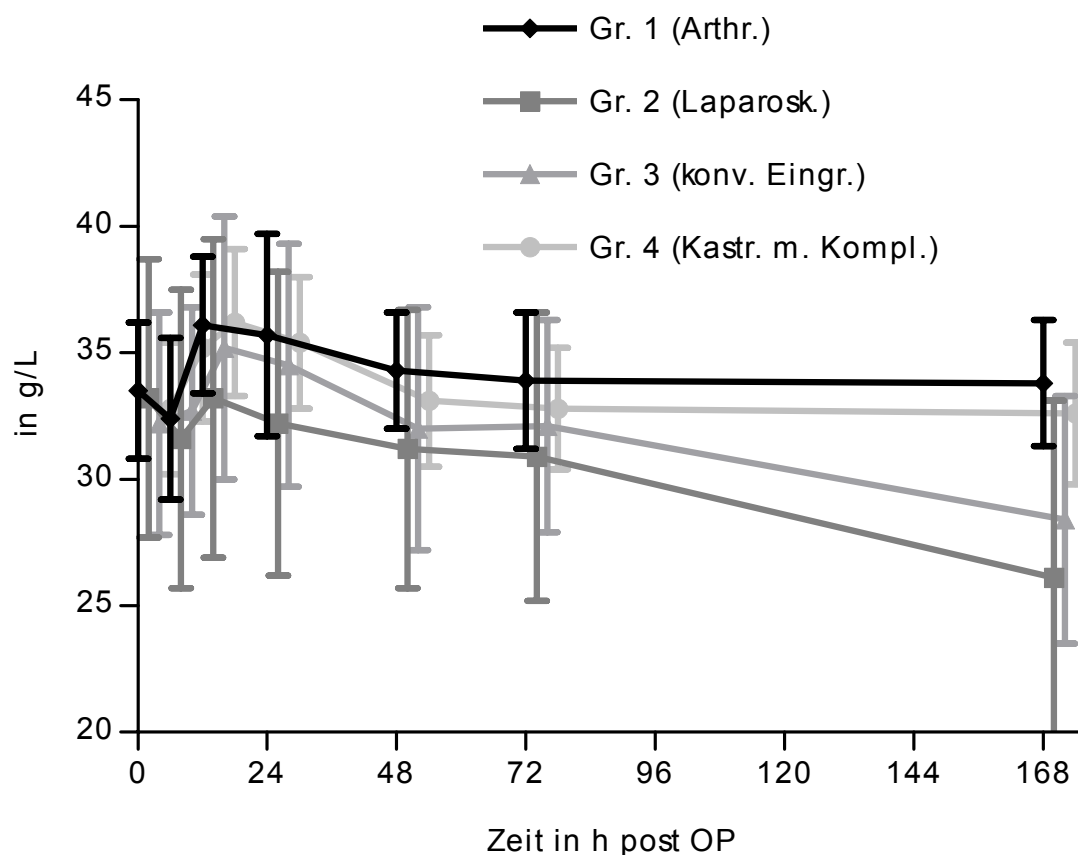


Diagramm 20: Albuminkonzentration der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in g/L. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: $34,1 \pm 3,3$ g/L. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XIV.

3.2.6.4 Globulin

Die Globulinkonzentration im Plasma wurde nicht direkt bestimmt, sondern ergab sich aus den gemessenen TPP-Werten abzüglich der Albuminwerte (s. Diagramm 21). Die Globulinwerte unterschieden sich zwischen Gruppe 1 und 2 schwach ($p < 0,05$) und zwischen Gruppe 3 und 4 deutlich ($p < 0,001$).

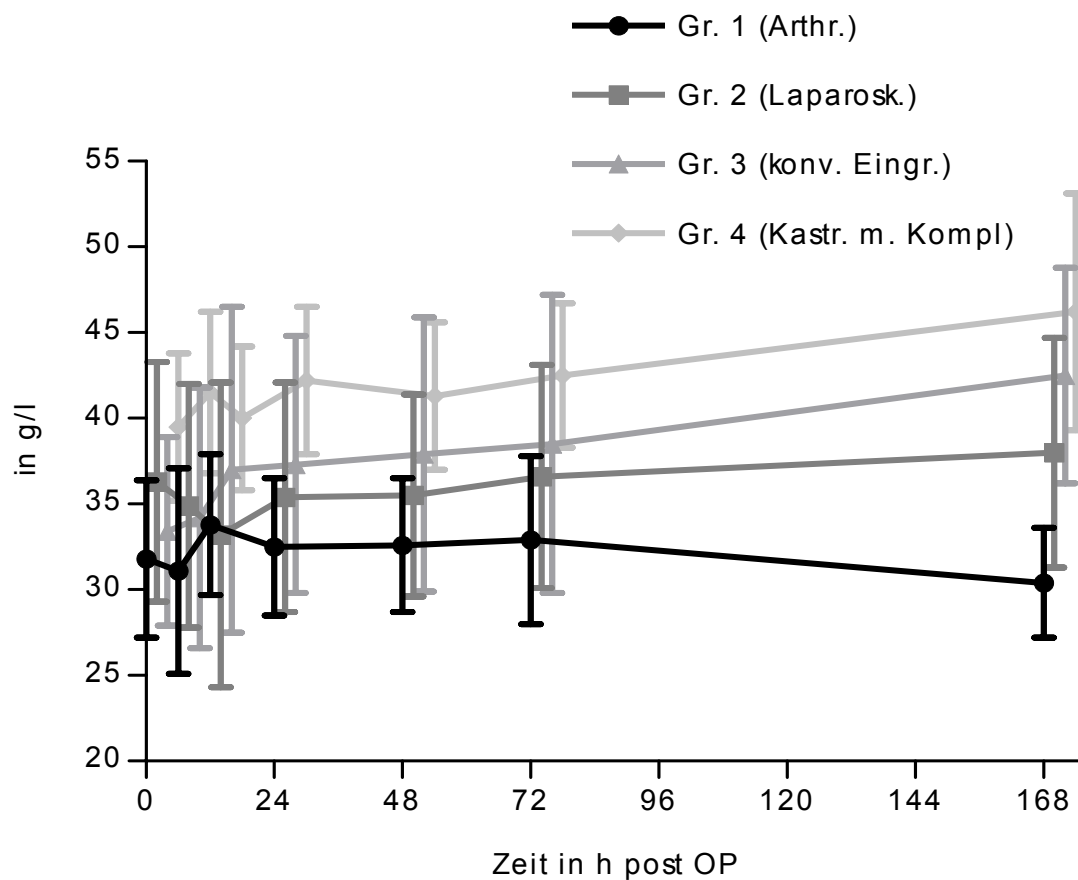


Diagramm 21: Globulinkonzentration der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in g/L. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: $32,4 \pm 6,1$ g/L. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XV.

3.2.6.5 Serum Amyloid A (SAA)

Serum Amyloid A (SAA) stieg in allen vier Gruppen signifikant an (s. Diagramm 22). Diese Konzentrationserhöhung im Serum war in den Gruppen 1 ($138 \pm 93,7 \mu\text{g/ml}$) und 3 ($173,9 \pm 135,6 \mu\text{g/ml}$) innerhalb 12 Stunden p. OP ($p < 0,01$) und in den Gruppen 2 ($275,6 \pm 194,9 \mu\text{g/ml}$) und 4 ($203,8 \pm 128,5 \mu\text{g/ml}$) innerhalb 24 Stunden p. OP ($p < 0,001$) signifikant. Dabei wurden die Höchstwerte in den Gruppen 1 ($210,4 \pm 147,7 \mu\text{g/ml}$) und 3 ($250,0 \pm 173,9 \mu\text{g/ml}$) 48 Stunden p. OP, in den Gruppen 2 ($302,5 \pm 196,3 \mu\text{g/ml}$) und 4 ($250,7 \pm 173,4$ ($302,5 \pm 196,3 \mu\text{g/ml}$)) innerhalb von 72 Stunden p. OP erreicht. In Gruppe 4 stiegen bei Einzeltieren die SAA-Werte zwischen 72 und 168 Stunden p. OP weiter an. Während der Mittelwert etwas absank, nahm die Standardabweichung aus diesem Grund zu ($214,0 \pm 259,0 \mu\text{g/ml}$). Sieben Tage p. OP sanken die Messwerte der Gruppe 1 ($1,4 \pm 0,6 \mu\text{g/ml}$) deutlich ab, wohingegen die Gruppen 2 ($121,6 \pm 206,1 \mu\text{g/ml}$) und 3 ($80,6 \pm 101,8 \mu\text{g/ml}$) auf erhöhtem Niveau blieben.

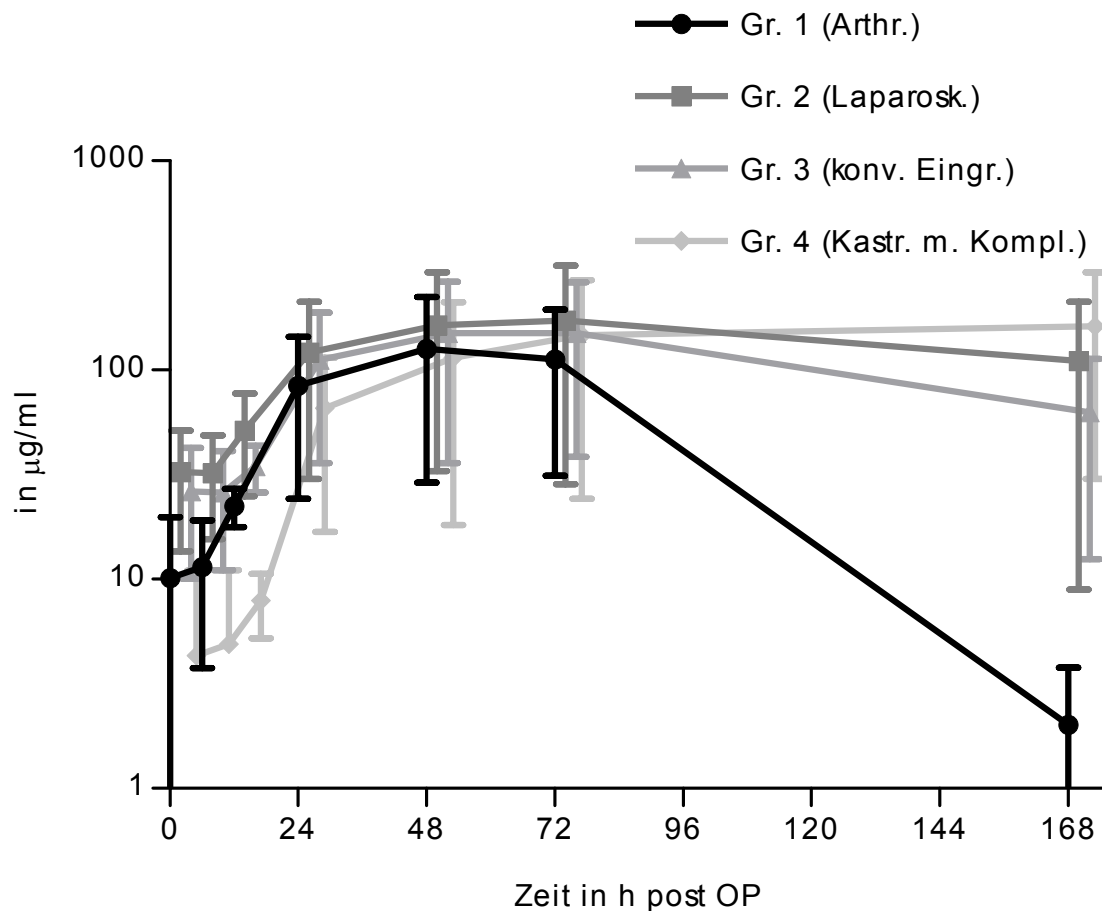


Diagramm 22: SAA-Werte der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\mu\text{g/ml}$. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: $1,5 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$. Die Darstellung ist halblogarithmisch. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XVI.

3.2.6.6 Haptoglobin (Hp)

Die operativen Eingriffe der Gruppe 1 verursachten innerhalb von 48 Stunden einen schwachen ($p < 0,05$; $2,9 \pm 1,5 \text{ mg/ml}$), innerhalb 72 Stunden einen deutlichen ($p < 0,01$; $3,2 \pm 1,6 \text{ mg/ml}$) Hp-Anstieg. Das Hp stieg hoch signifikant 48 Stunden p. OP in Gruppe 2 an ($p < 0,001$; $4,2 \pm 1,5 \text{ mg/ml}$). Dieser Trend blieb bis zum 7. Tag p. OP bestehen ($4,9 \pm 3,1 \text{ mg/ml}$). Die drastische Zunahme nach 48 Stunden war auch in Gruppe 3 erkennbar ($3,3 \pm 1,3 \text{ mg/ml}$). Allerdings sank Hp in den Gruppen 1 und 3 7 Tage p. OP bereits wieder ($p < 0,05$; Gr. 1: $2,5 \pm 1,1 \text{ mg/ml}$; Gr. 3: $3,2 \pm 1,1 \text{ mg/ml}$). Einen Hp-Anstieg zeigte Gruppe 4, der aber erst nach 72 Stunden nachdrücklich

wurde ($p < 0,001$; $4,1 \pm 0,6$ mg/ml). Auch am 7. Tag war in Gruppe 4 noch eine steigende Tendenz zu sehen ($4,8 \pm 0,8$ mg/ml).

Gruppen- und Zeitunterschiede waren eindeutig ($p < 0,0001$) für alle Gruppen. Tendenziell stiegen die Resultate in Gruppe 2 und 4 am 7. Tag noch an und bewegten sich dabei oberhalb des Referenzlimits. Diese beiden Gruppen wiesen untereinander keine Differenzen auf. Im Gegensatz dazu standen die Gruppen 1 und 3. In diesen Gruppen war am 7. Tag p. OP ein Absinken von Hp zu sehen. Mit Ausnahme der Gruppe 1 verdoppelte sich der Hp Gehalt im Serum innerhalb von 7 Tagen p. OP (s. Diagramm 23).

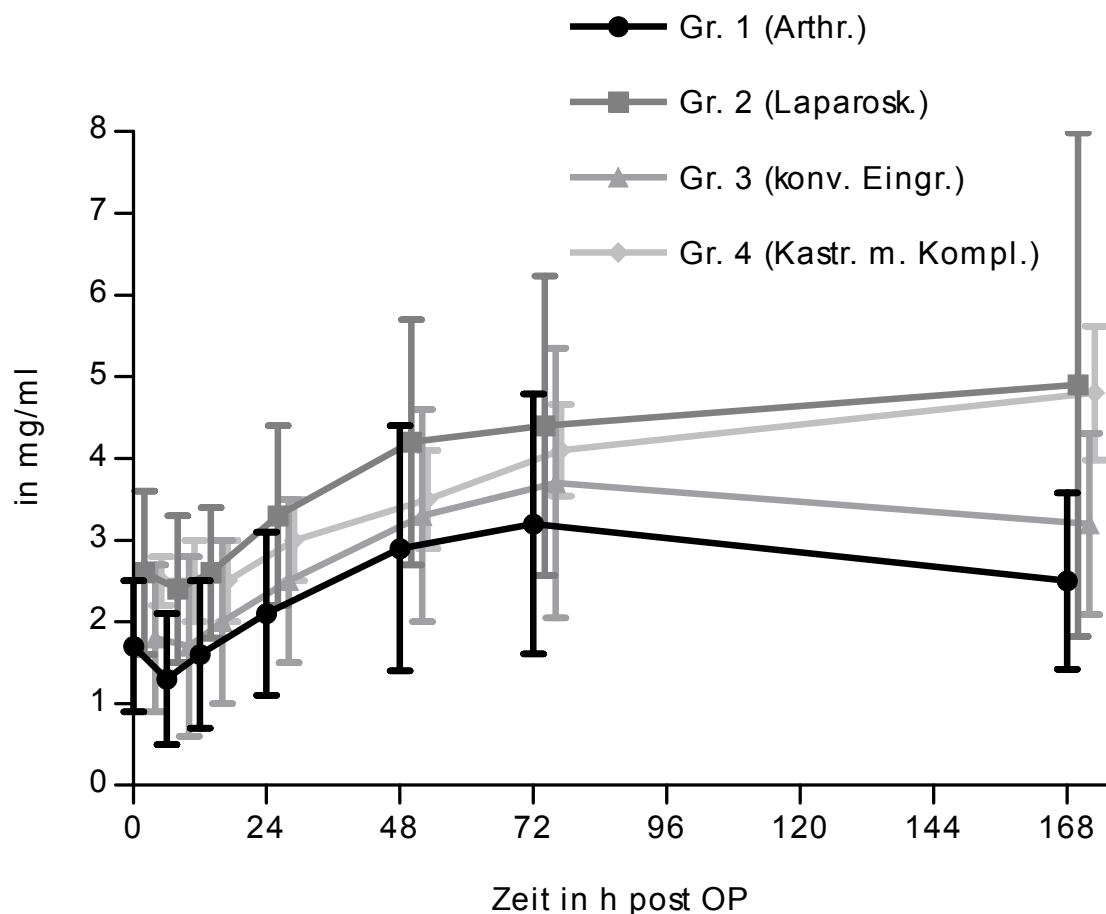


Diagramm 23: Haptoglobinwerte der Gruppe 1, 2, 3 und 4 in mg/ml. Referenzgruppe $\bar{x} \pm SD$: $1,3 \pm 0,6$ mg/ml. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XIX

3.2.6.7 Fibrinogen (Fib)

Innerhalb von 24 Stunden zeigte sich in Gruppe 1 eine schwache Erhöhung ($p < 0,05$; 214 ± 33 mg/dl), nach 48 Stunden kam es zu einem eindeutigen Fibrinogenanstieg ($p < 0,001$; 239 ± 45 mg/dl). Auch Gruppe 2 ließ sich eine signifikante Steigerung der Fibrinogenkonzentration 48 Stunden p. OP erkennen ($p < 0,001$; 289 ± 80 mg/dl). Die Eingriffe in Gruppe 3 verursachten ebenfalls deutliche Konzentrationssteigerungen schon 24 Stunden p. OP ($p < 0,001$; 241 ± 43 mg/dl). Gruppe 4 zeigte ab 48 Stunden p. OP eine Fibrinogenzunahme ($p < 0,01$; 307 ± 41 mg/dl). Die Differenz der Werte 6 Stunden p. OP (240 ± 43 mg/dl) und am 7. Tag p. OP (372 ± 84 mg/dl) ergaben eindeutige Unterschiede ($p < 0,001$). Vergleicht man die Gruppen untereinander, so unterschieden sich alle Gruppen ($p < 0,0001$). Gruppe 4 ist die einzige Gruppe, deren Mittelwert am 7. Tag den oberen Referenzwert überstieg (s. Diagramm 24).

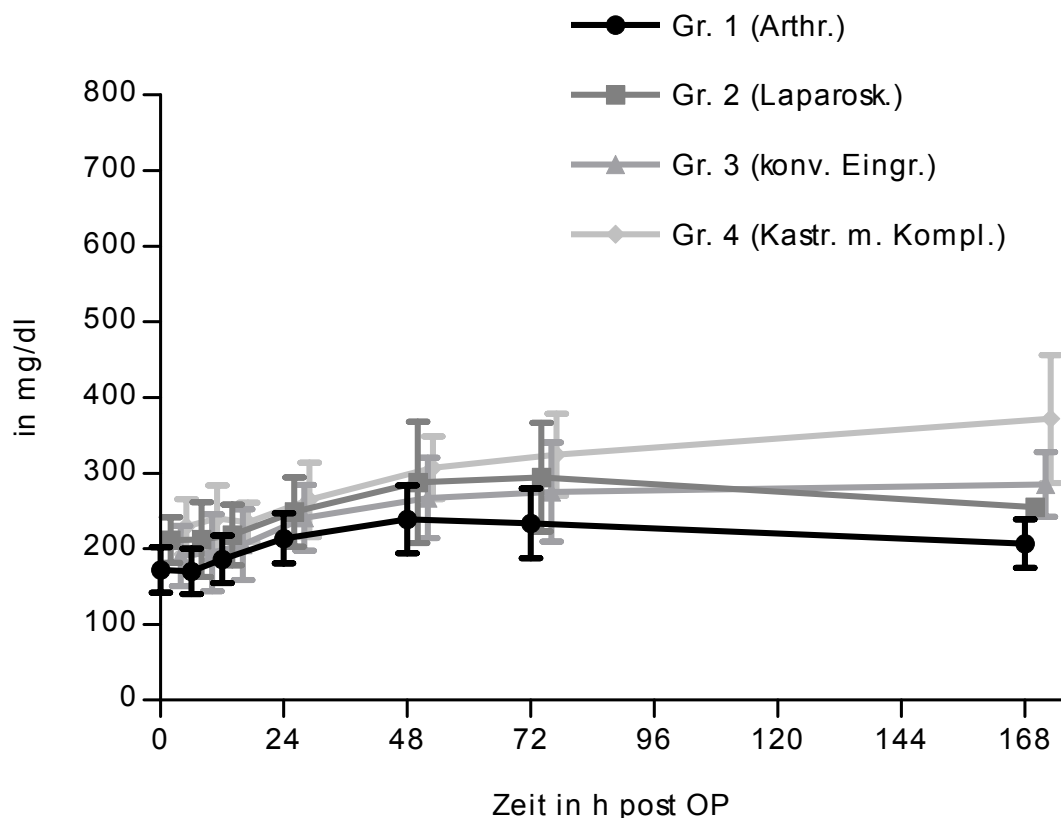


Diagramm 24: Fibrinogenkonzentration (CLAUSS) der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in mg/dl. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: 183 ± 28 mg/dl. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XVII.

Bei der Fibrinogenbestimmung kam es zu deutlichen Unterschieden zwischen den beiden Messmethoden in den Konzentrationen. Deshalb sind sowohl die Werte aus der Bestimmung nach CLAUSS (1957) (s. Diagramm 24) als auch die mit dem QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) (s. Diagramm 25) bestimmten Werte hier dargestellt.

Wie in Diagramm 25 ersichtlich kam es in Gruppe 1 innerhalb 24 Stunden p. OP zu einem eindeutigen Fibrinogenanstieg ($p < 0,01$; 312 ± 51 mg/dl). 48 Stunden p. OP war dieser Anstieg noch deutlicher ($p < 0,001$; 333 ± 55 mg/dl). Gruppe 2 zeigte innerhalb 48 Stunden p. OP verglichen mit dem 0-Wert signifikante Steigerungen des Fibrinogengehaltes ($p < 0,01$; 414 ± 81 mg/dl). Der 6 Stundenwert unterschied sich von dem 48 Stundenresultat hoch signifikant ($p < 0,001$). Die Operationen der Gruppe 3 verursachten innerhalb von 24 Stunden p. OP einen bemerkenswerten ($p < 0,01$;

351 ± 76 mg/dl), innerhalb 48 Stunden p. OP einen eindeutigen ($p < 0,001$; 380 ± 98 mg/dl) Fibrinogenanstieg. Nach 48 Stunden kam es in Gruppe 4 zu der ersten deutlichen Erhöhung ($p < 0,01$; 505 ± 55 mg/dl), welche sich 72 Stunden p. OP noch verstärkte ($p < 0,001$; 536 ± 73 mg/dl). In dieser Gruppe war der Anstieg am drastischsten. Im Gruppenvergleich war zu erkennen, dass sich alle Mittelwerte, außer denen der Gruppe 4, innerhalb des Referenzbereiches bewegten. Achtundvierzig Stunden p. OP überstieg der Mittelwert dieser Gruppe die obere Grenze. Die Gruppen unterschieden sich deutlich untereinander ($p < 0,0001$).

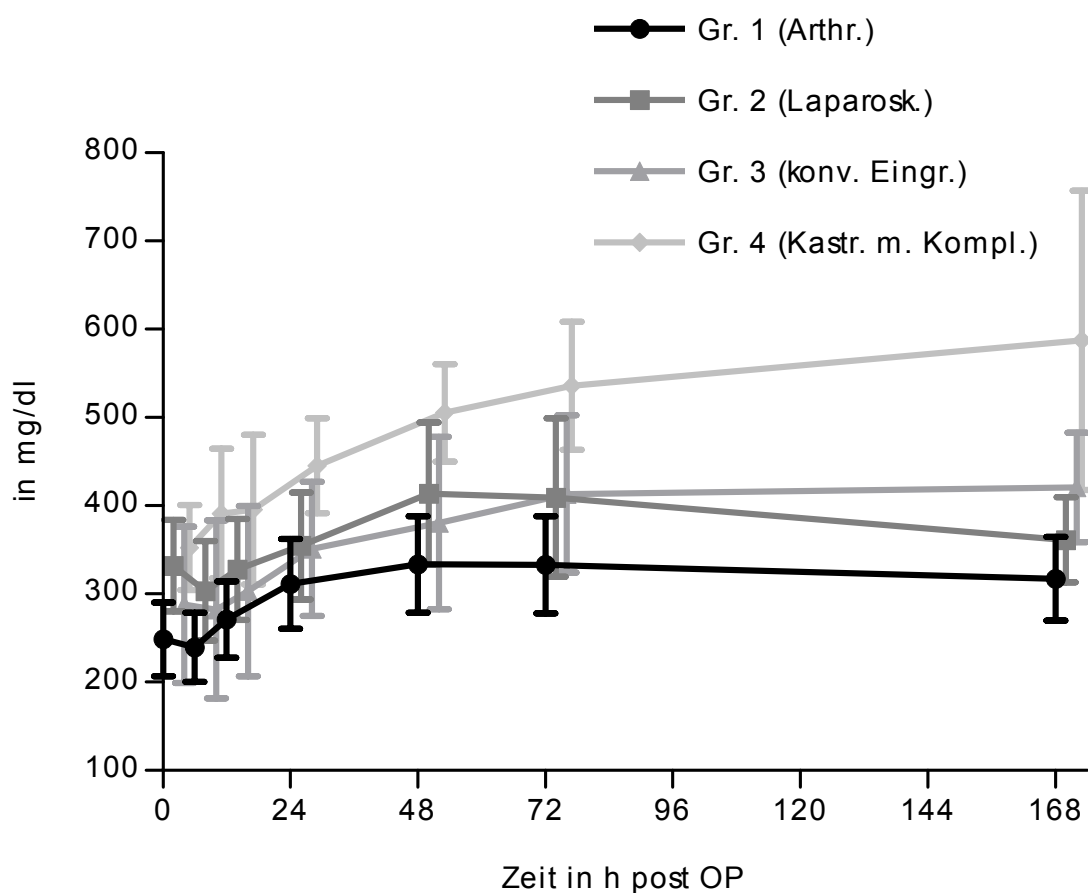


Diagramm 25: Fibrinogenkonzentration (QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt)) der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in mg/dl. Referenzgruppe $\bar{x} \pm \text{SD}$: 287 ± 49 mg/dl. Absolutwerte siehe Anhang Tab. XVIII.

4 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

4.1 Diskussion des Methodenvergleichs

4.1.1 Vergleich des VetABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) mit QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt)

Die beiden Analyseverfahren, welche zum Einsatz kamen, beruhen wie bereits erwähnt auf unterschiedlichen Messprinzipien (s. Kap. 3.1.3). Die beste Kongruenz der hier parallel eingesetzten Blutanalysegeräte VetABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) und QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) zeigt die Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl (WBC-Count). Allein für diesen Parameter kann ein gleicher Mittelwert berechnet werden. Die Bestimmung von HKT, PNG und L/M in % ergibt eine gute Korrelation der beiden Verfahren, aber die Mittelwerte weichen deutlich voneinander ab. Das sagt aus, dass die Ergebnisse einer Probe, gemessen mit den beiden unterschiedlichen Messverfahren, verschiedene Absolutwerte ergeben, diese aber über einen Koeffizienten im Bedarfsfall vergleichbar sind. Eine Ausnahme bildet die Thrombozytenzahl. Bei diesem Parameter korrelieren die beiden Methoden nicht, die Mittelwerte sind nicht gleich und die Bland-Altman-Analyse ergibt keine Signifikanz. Dies ist auf die Aggregationsneigung der Thrombozyten zurückzuführen. In der Bland-Altman- und der Korrelationsanalyse zeigt sich, dass mit der Zentrifugationsmethode höhere Resultate gewonnen werden.

Das VetABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) und das QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt), beide für den Praxisgebrauch konzipiert, zeichnen sich durch eine gute bis sehr gute Korrelation ihrer hämatologischen Messungen (Ausnahme ist PLT-Bestimmung) aus.

4.1.2 Fibrinogenbestimmung

Die Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) wird mit dem QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) verglichen, welches mit dem Prinzip der Hitzepräzipitation nach MILLAR (1971) arbeitet. Die Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) weist nur funktionell aktives Fibrinogen nach, während bei der Hitzepräzipitation nach MILLAR (1971) alle Proteinbestandteile des Plasmas, welche bei 57°C koagulieren, bestimmt werden. Daraus ergibt sich, dass bei der Messung mit dem QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) höhere Werte zu erwarten sind.

TAMZALI et al. (2001) veröffentlichten eine Vergleichsstudie zur Messung von Plasmafibrinogen. Fibrinogen wurde dabei von gesunden und kranken Pferden nach drei verschiedenen Methoden bestimmt. Manuell mit der Methode nach SCHALM (1970), automatisch mit dem QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) mit dem Prinzip nach MILLAR (1971) und mit der Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) (TAMZALI et al., 2001). Die Korrelation zwischen den beiden Hitzepräzipitationsmethoden war bis zu einem Plasmafibrinogengehalt von 6 g/L sehr gut, während die mit der Koagulationsmethode gemessenen Werte um 30 % unter denen der manuellen Hitzepräzipitation nach MILLAR (1971) lagen. Auch die eigenen Untersuchungen sprechen für eine gute Korrelation der beiden Bestimmungsmethoden im physiologischen Bereich. Resultate von Proben, die 168 Stunden nach dem Entzündungsreiz entnommen wurden, sind bei einer Bestimmung mit Hilfe des QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) deutlich höher als die mit der Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) gefundenen Werte. Diese Unterschiede erklären sich aus den beiden Messprinzipien. Die Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) bestimmt das gerinnungsfähige Fibrinogen, wobei Fibrinogenabbauprodukte (die vermehrt bei einer Entzündungsreaktion auftreten) den Gerinnungsprozess stören und in niedrigeren Fibrinogenwerte resultieren (MISCHKE et al., 2000). Das QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörrstadt) arbeitet mit der Hitzepräzipitation nach MILLAR (1971), wobei nach dem ersten Zentrifugieren alle bei 57°C koagulierenden Proteine ausgefällt werden. Dies ist hauptsächlich Fibrinogen, aber mit der Veränderung der Plasmaproteinzusammensetzung während einer APR wahrscheinlich zunehmend auch andere APP. Dies könnte die Erklärung für die höheren Messwerte mit der Hitzepräzipitation bei zunehmender Fibrinogenkonzentration und einer somit bestehenden APR sein.

Die beiden Messverfahren zur Fibrinogenbestimmung, die Hitzepräzipitation nach MILLAR (1971) und die Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) zeigen bei niedrigen Fibrinogenwerten eine gute Übereinstimmung. Fibrinogenkonzentrationen im pathologischen Bereich erzielen bei der Hitzepräzipitation höhere Ergebnisse als bei der Koagulationsmethode. Dies muss bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

4.2 Lagerungsversuche

4.2.1 Heparinplasma

Schon beim Messen des Totalplasma Proteins (TPP) der 0-Probe mit Doppelbestimmung trat bei einer Probe eine Abweichung von 18,1 % auf. Ursache für diese Schwankung kann also nicht eine mangelhafte Lagerung, sondern fehlerhafte Probenverarbeitung oder ein Methodenschwachpunkt (hohe intra-assay Varianz) sein. Ein ähnlicher Lagerungsversuch wurde bereits mit dem gleichen Messverfahren im Rahmen einer Dissertation angefertigt (ROSCHER, 2000). Dabei wurden starke Abweichungen gegenüber dem 0-Wert gesehen. Diese Schwankungen gegenüber dem 0-Wert wurden leider nicht mit einer Doppelmessung verifiziert, sondern als lagerungsbedingt diskutiert.

Die Bestimmung von Albumin hat gezeigt, dass es nach längerer Lagerungszeit nur zu geringen Schwankungen gegenüber dem 0-Wert kommt, viel wichtiger erscheinen aber die Abweichungen einzelner Doppelbestimmungen unabhängig von der Lagerungsdauer und –art voneinander um mehr als 5%.

Um große Schwankungen bei der Bestimmung von TPP und Albumin zu vermeiden sollten entsprechende Proben zweifach gemessen werden.

4.2.2 Zitratplasma

Ein Lagerungsversuch mit Zitrat-Plasma war notwendig, da laut Hersteller des Blutentnahmesystems (Sarstedt®, Nürnberg) die Bestimmung von Gerinnungsparametern innerhalb von 4 Stunden nach Entnahme stattfinden soll. Dies war im Rahmen dieser Untersuchung versuchsbedingt nicht bei allen Proben möglich. Trotz des geringen Probenumfanges des Lagerungsversuches konnte gezeigt werden, dass innerhalb von 19 Tagen niedrigere Fibrinogenkonzentrationen gemessen werden, diese Unterschiede aber abhängig von der Lagerungsform sind. In tiefgefrorenen Proben kommt es zum geringsten Verlust an Fibrinogen, gefolgt von der Lagerung im Kühlschrank, während bei Raumtemperatur gelagerte Proben deutlich weniger Fibrinogen aufweisen als nach den beiden anderen Lagerungsformen. Tiefgekühlte Proben können also mit geringen Verlusten noch mindestens 19 Tage nach Entnahme gemessen werden.

Bei der Bestimmung von Fibrinogen besteht eine gute Übereinstimmung zwischen frischen und tiefgekühlten Proben.

4.3 Referenzgruppe

Die statistischen geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich des WBC-Count, des Differenzialblutbildes und den serologischen Parametern wie TPP, Albumin und Haptoglobin zwischen den drei Referenzgruppen sind ohne klinische Bedeutung. Die hämatologischen Parameter unterscheiden sich zwar hoch signifikant, aber mit einer niedrigen Differenz, so dass daraus keine klinische Relevanz folgt. Gleiches gilt für TPP und Albumin. Eine Ausnahme bildet das Hp. TAIRA et al. (1992a) berichteten über alters- und geschlechtsspezifische Differenzen bei der Festlegung von Referenzwerten. Die altersbedingten Unterschiede konnten durch HARVEY et al. (1984) nicht beobachtet werden. Bei der eigenen Referenzgruppe wird zwar nach Geschlecht und grundsätzlicher Fortpflanzungsfähigkeit unterteilt, allerdings befinden sich in dieser Gruppe nur adulte Tiere ohne Berücksichtigung des Zyklus- bzw. Gestationsstandes (Stuten). Diese Differenzierung empfiehlt sich als Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Für die APP dieser Studie bestehen in der Referenzgruppe keine klinisch relevanten geschlechtsspezifischen Unterschiede.

4.4 Diskussion der klinischen Untersuchung

4.4.1 Allgemeine klinische Untersuchung

Die Herz- und Atemfrequenz sowie die Körpertemperatur können physiologisch aufgrund von Aufregung, Anstrengung und hohen Umgebungstemperaturen erhöht sein. Pathologische Steigerungen dieser Parameter im Entzündungsfall sind Ausdruck gestörter Regelkreise. Veränderungen der klinischen Parameter Herzfrequenz und Körpertemperatur können als Folge einer Endotoxininfusion innerhalb einer Stunde (abhängig von der Endotoxindosis) beobachtet werden (MORRIS et al., 1992b; BARTON et al., 1997).

Die Herzfrequenz erhöht sich innerhalb einer Stunde und erreicht 2 Stunden nach Endotoxininfusion Maximalwerte, wobei das Referenzintervall schon 3 Stunden nach Versuchsbeginn wieder erreicht wird (MORRIS et al., 1992b; BARTON et al., 1997). Die eigenen Untersuchungen zeigen bei Pferden der Gruppen 1, 2 und 3 keine signifikanten Veränderungen der Pulsfrequenz, wobei aber insgesamt der Mittelwert der Pulsfrequenz 6 bzw. 7 Tage nach dem Eingriff niedriger ist als zu Beginn. Dies lässt sich durch den psychischen Stress bei der Probenentnahme und eine Gewöhnung der Tiere an die Untersuchung und Blutprobenentnahme erklären.

Die Auswertung der Atemfrequenz ergibt in der Studie von BARTON et al. (1997) 6 Stunden nach der Infusion mit Endotoxin eine signifikante Erhöhung von 25 auf ca. 34 Atemzügen pro Minute (genaue Werte sind nicht angegeben). 24 Stunden nach der Infusion erreicht die Atemfrequenz wieder den Referenzbereich (BARTON et al., 1997). Nach Induktion einer aseptischen Arthritis ist hingegen 24 Stunden nach intraartikulärer Injektion ein Anstieg der Atemfrequenz zu erkennen, welcher 24 Stunden anhält (HULTEN et al., 2002). In der vorliegenden Arbeit treten dagegen in keiner Gruppe signifikante Veränderungen der Atemfrequenz auf.

Herz- und Atemfrequenz scheinen abhängig von Art und Stärke des Stimulus (Endotoxinkonzentration, operativer Eingriff) unmittelbar anzusteigen und daraufhin wieder in den Referenzbereich zu fallen. Vermutlich sind *lege artis* durchgeführte operative Eingriffe relativ geringe Stimuli um signifikante Veränderungen dieser Parameter auslösen zu können. Dies bedeutet dann im Umkehrschluss, dass einem erheblichen Anstieg von Herz- oder Atemfrequenz innerhalb der ersten 6 bis 12 Stunden nach einem operativen Eingriff eine schwere entzündliche Reaktion zugrunde liegen könnte.

Die Körperinnentemperatur steigt nach Endotoxininfusion innerhalb von zwei Stunden an und erreicht nach 12 Stunden wieder normales Niveau (MORRIS et al., 1992b; BARTON et al., 1997; BASKETT et al., 1997). Wird hingegen das Endotoxin intraartikulär injiziert, so steigt die Körpertemperatur erst innerhalb von 18 Stunden signifikant an (HAWKINS et al., 1993). Die eigenen Beobachtungen zeigen den ersten signifikanten Anstieg 12 Stunden nach dem Eingriff in allen vier Gruppen. Unterschiede zwischen den ersten drei Gruppen und Gruppe 4 sind 24 Stunden p. OP erkennbar. Zu diesem Zeitpunkt liegen die Werte der Pferde mit Wundheilungsstörung über denen mit einem komplikationslosen Heilungsverlauf, was bis zum 7. Tag bestehen bleibt. Unterschiede im Heilungsverlauf scheinen anhand der Temperaturmessung differenzierbar zu sein, da die Mittelwerte der Gruppe 3 (Kastration oder Griffelbeinexstirpation mit unkompliziertem Heilungsverlauf) 48 Stunden p. OP deutlich niedriger liegen als die der Gruppe 4 (Kastration in Laufstallhaltung mit Komplikationen der Wundheilung; s. Diagramm 3). Psychischer Stress kann sich auch durch Erhöhung der Körperinnentemperatur bemerkbar machen. Dies ist beim Vergleich der 0-Werte nachzuvollziehen. Pferde in Gruppe 4, welche an den Umgang mit Menschen nicht gewöhnt waren und mit viel Aufregung aus dem Gruppenverband getrennt wurden, hatten bereits bei Untersuchungsbeginn eine höhere Körperinnentemperatur als die Pferde der anderen drei Gruppen. Diese Tiere waren meist den Umgang mit Menschen gewöhnt. Allerdings ist im Verlauf von Puls, Atmung und Temperatur ein Absinken in den Gruppen 1, 2 und 3 gegen Ende der Studie zu sehen, während die Körperinnentemperatur in Gruppe 4 trotz zunehmender Gewöhnung an die Untersucherin deutlich erhöhte Werte aufweist. In dieser Gruppe war zu Beginn der Untersuchung eine Bestimmung von Puls- und Atemfrequenz nicht möglich, weshalb diese Parameter für Tiere in Gruppe 4 fehlen.

Puls- und Atemfrequenz sowie Körpertemperatur steigen nach einer Injektion von Endotoxin bei Pferden an. Diese Reaktion ist in ihrem zeitlichen Ablauf abhängig von der Applikationsart (intravenös oder intraartikulär) (MORRIS et al., 1992b; HAWKINS et al., 1995; BARTON et al., 1997; HULTEN et al., 2002).

Innerhalb von 12 Stunden nach einer Operation zeigt jede Gruppe einen Temperaturanstieg. Dieser Anstieg bewegt sich allerdings bei den meisten Patienten innerhalb des Referenzintervalls und übersteigt bei ungestörtem postoperativem Heilungsverlauf den physiologischen Grenzwert weder markant noch dauerhaft. Demgegenüber führen Wundheilungsstörungen (Gruppe 4) zu einem febrilen Temperaturanstieg, der über den Untersuchungszeitraum anhält.

4.4.2 Spezielle klinische Untersuchung

4.4.2.1 Allgemeinbefinden (AB)

Störungen des AB können von leichter Lethargie bis zu heftiger Koliksymptomatik und Festliegen reichen. Diese klinischen Zeichen einer entzündlichen Erkrankung werden allerdings nur selten in Studien untersucht. Die Infusion von Endotoxin führt neben einem Anstieg der Körpertemperatur und der IL-6-Konzentration bereits nach einer Stunde zu einer Beeinträchtigung des AB (MORRIS et al., 1992b). Innerhalb von 12 Stunden p. OP sind geringgradige Störungen des Allgemeinbefindens (AB) bei einigen Tieren der Gruppe 1 (arthroskopischer Eingriff) offensichtlich, während sich die Pferde in den anderen Gruppen meist unauffällig verhalten. Zweiundsiebzig Stunden nach dem Eingriff zeigen die Pferde aus Gruppe 4 vermehrt ein mittelgradig reduziertes AB. Das AB ist in Gruppe 4 am 7. Tag nach der Kastration nur noch geringgradig gestört. Dabei hatten die Pferde sowohl 72 Stunden als auch 7 Tage nach der Operation eine febrile Körpertemperatur. Als ausgesprochene Fluchttiere zeigen Pferde ihre Schwächen erst sehr spät, was bei der Beobachtung der Tiere berücksichtigt werden muss.

4.4.2.2 Schmerzhaftigkeit

Pferde in Gruppe 1, 2 und 3 zeigen innerhalb von 72 Stunden nach der Operation eine geringgradige Schmerzhaftigkeit im Bereich der Operationswunde, welche 6 bzw. 7 Tage nach dem Eingriff bereits wieder abnimmt. Im Gegensatz dazu sind Tiere in Gruppe 4 erst 72 Stunden p. OP geringgradig schmerzhaft. Diese sehr spät nach der Operation auftretende Schmerzhaftigkeit ist teilweise durch die Haltungsform und die Art der Untersuchung zu erklären. Die Tiere in Gruppe 4 mussten aus dem Herdenverband separiert und zur Untersuchung in einen Zwangstand, teilweise mit zusätzlichen Zwangsmaßnahmen (Oberlippenbremse) verbracht werden. Dies verursachte wahrscheinlich eine Freisetzung von Stresshormonen (Adrenalin, Cortison) und Endorphinen. Diese körpereigenen Botenstoffe reduzieren das Schmerzempfinden.

4.4.2.3 Schwellung

Eine mindestens geringgradige Schwellung der Operationswunde tritt bei fast allen Pferden der Gruppen 1, 2, 3 und 4 innerhalb von 48 Stunden p. OP auf. Vermehrt konnte dieses Entzündungssymptom in den Gruppen 3 und 4 beobachtet werden.

4.4.2.4 Wärme

Pferde in Gruppe 1, 2 und 3 haben im Bereich der Operationswunde innerhalb der ersten 72 Stunden eine geringgradig erhöhte Oberflächentemperatur. In Gruppe 4 ist eine mittelgradige Steigerung der Oberflächentemperatur 72 Stunden p. OP fühlbar, welche bis zum 7.Tag p. OP anhält. Diese Veränderungen zeigen sich durch subjektive Beurteilung der Operationswunde. Die Oberflächentemperatur kann aber auch objektiv mit einer Infrarotkamera gemessen werden (HAWKINS et al., 1993). Wird mit dieser Methode die Oberflächentemperatur des Karpalgelenkes nach intraartikulärer Applikation von Endotoxin gemessen, so ist innerhalb von 2 Stunden ein signifikanter Anstieg zu beobachten (HAWKINS et al., 1993). Hundertvierundvierzig Stunden nach der Injektion ist dann ein Abfall der Oberflächentemperatur messbar.

4.4.2.5 Exsudationsmenge und -charakter

Exsudation ist praktisch nur in Gruppe 4 zu sehen, in welcher bereits 24 Stunden p. OP einige Tiere Wundausfluss zeigen. Zweiundsiebzig Stunden p. OP ist im Mittel eine geringgradige Exsudationsmenge registrierbar. Der Exsudatcharakter ist eher serös, wobei einige Patienten auch bereits 48 Stunden p. OP eine eitrige Exsudation aufwiesen. Da in dieser Gruppe nach der Kastration kein Verschluss der Hautwunde vorgenommen wurde, war eine vermehrte Exsudation im Vergleich zu Pferden der Gruppe 3 zu erwarten.

Zusammenfassend ist die Beurteilung des Allgemeinbefindens und der lokalen Entzündungsreaktion sinnvoll, um sich ein Gesamtbild des Patienten zu verschaffen. Nach dem Erzeugen einer Operationswunde als Entzündungsmodell kommt es zu Schmerzäußerungen wie Abwehrbewegung oder im Falle der Arthroskopien, Griffelbeinexstirpationen und Kastrationen zu Lahmheiten. Schwellung, gesteigerte Oberflächentemperatur und Exsudation sind weitere Hinweise auf eine ablaufende lokale Entzündungsreaktion, welche an einigen Operationswunden gesehen wurde. Allerdings unterliegen diese Beobachtungen trotz der Scoring-Tabelle subjektiven Einflüssen, dem Charakter des Patienten und der Lokalisation. Trotz festgelegter Parameter beurteilt jeder Untersucher einen Patienten anhand seiner persönlichen Erfahrung. Die Lokalisation der Operationswunde stellte eine weitere Schwierigkeit dar. So ist die Oberflächentemperatur im Zwischenschenkelspalt deutlich höher als z.B. am Thorax. Die Beurteilung der Hautwunden und der Lahmheit ist aufgrund der Verbände und dem Risiko einer Nahtdehiszenz nicht zu jedem Untersuchungszeitpunkt möglich.

4.5 Diskussion der hämatologischen Untersuchung

4.5.1 Hämatokritwert (HKT)

Der HKT ist von Alter, Rasse, Geschlecht und Trainingszustand abhängig. Zu einer physiologischen Erhöhung kommt es durch endogene Ausschüttung von Adrenalin

oder Verabreichung von Sympathomimetika. Adrenalin oder Stoffe mit adrenerger Wirkung führen zu einer Kontraktion der Milz, wodurch die dort gespeicherten Blutzellen in den Blutkreislauf gelangen (JAIN, 1986d; WOOD und FEDDE, 1997). Diese Einflüsse alleine können zu signifikanten Schwankungen bei einer täglichen Messung des HKT führen (PATTERSON et al., 1988).

Der Einfluss von Narkotika bzw. Sedativa auf den HKT ist in der Literatur ausführlich beschrieben (JAIN, 1986d). Die Einleitung einer Narkose bewirkt ein Absinken des HKT, das sich durch die relaxierende Wirkung der meisten Narkotika mit Sequestrierung der Erythrozyten in die Milz erklären lässt. Unabhängig von Allgemeinanästhesie (Gruppe 1, 3 und 4) oder Sedierung (Gruppe 2) sinkt der HKT in den Gruppen 1, 2 und 3 signifikant ab, steigt dann zwischen 12 und 48 Stunden p. OP über das arithmetische Mittel des 0-Wertes. Dieser Verlauf zeichnet sich auch in Gruppe 4 ab, allerdings ohne signifikante p-Werte. Ein solcher Abfall kann narkose- bzw. sedationsbedingt sein. Eine experimentell induzierte Weichteilentzündung führt zu einem Sinken des HKT während der ersten 72 Stunden nach der Injektion (PATTERSON et al., 1988). Allerdings verursacht eine Endotoxämie innerhalb von 1 bis 2 Stunden nach der Verabreichung einen deutlichen HKT-Anstieg (BURROWS, 1981). Der signifikante Anstieg des HKT in den eigenen Gruppen zwischen 12 und 48 Stunden p. OP bewegt sich innerhalb des Referenzintervalls. Ob diese Erhöhung auch mit einer beginnenden Entzündungsreaktion in Verbindung zu bringen ist, kann durch diese Arbeit nicht beantwortet werden, dafür müsste ein Modell einer Entzündungsreaktion gewählt werden, welches weder eine Allgemeinanästhesie noch eine Sedierung zur Induktion benötigt und auf die Verwendung von Endotoxin verzichtet.

Der HKT-Wert schwankt bei allen Patienten, wobei ein Abfall direkt nach einer Allgemeinanästhesie oder Sedierung zu beobachten ist. Weder die Operationsmethode, noch eine starke Entzündungsreaktion (Gruppe 4) scheinen Einfluss auf den HKT-Wert zu haben.

4.5.2 Gesamtleukozytenzahl (WBC-Count)

Die Reaktion des WBC-Count und des Differenzialblutbildes auf Erkrankungen ist sehr speziesspezifisch. Während bei Hund und Katze nicht selten Werte von über $40 \times 10^9 /L$ gemessen werden, bewegt sich eine Leukozytose beim Pferd zwischen $15-25 \times 10^9 /L$ (JAIN, 1986a). Die Bestimmung des WBC-Count bei Pferden nach Kastration mit und ohne Wundheilungsstörung konnte keinen signifikanten Anstieg in einer dieser Gruppen oder einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachweisen (JACOBSEN et al., 2005a). Diese relativ niedrigen Veränderungen auch bei hochgradigen lokalen Entzündungen konnten hier bestätigt werden. Die höchsten Einzelmesswerte betrugen Stunden 12 p. OP $24 \times 10^9 /L$. Während in den Gruppen 1, 2 und 3 kein Mittelwert den oberen Referenzwert überschritt, bewegten sich die Mittelwerte der Gruppe 4 im gesamten Beobachtungszeitraum über dem oberen Referenzbereich (s. Diagramm 11). In Gruppe 4 ist ebenfalls in Folge der Kastration ein massiver Anstieg des WBC-Counts innerhalb von 12 Stunden p. OP zu sehen.

Einen Sonderfall mit stark erhöhter Leukozytenkonzentration stellt Pferd C, ein 5 jähriger Tinker-Mix mit beidseitig abdominal gelegenen Testes, dar. Zwei Wochen vor der laparoskopischen Kastration in der Tierklinik Starnberg verlief ein Kastrationsversuch mit inguinalem Zugang erfolglos. Die rechte Kastrationswunde zeigte zum Zeitpunkt der Vorstellung eine eitrig-eitrige Wundexsudation. Aus diesem Grund ist das Tier nicht in Gruppe 2 aufgeführt. Die Kastration wurde laparoskopisch durchgeführt. Die Parameter der klinischen Untersuchung (Puls, Atmung und Temperatur) blieben innerhalb des jeweiligen Referenzintervalles, wohingegen extreme Anstiege bei der Leukozytenzahl messbar waren. Schon vor dem laparoskopischen Eingriff bestand eine Linksverschiebung der PNG. Während Fibrinogen fast ausschließlich innerhalb des Referenzintervalles verblieb, war Haptoglobin schon vor dem Eingriff erhöht (s. Tab. 13).

Tab. 13: Ergebnisse der klinischen und hämatologischen Untersuchung von Pferd C.

Parameter	0	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	168 h	Referenzbereich
Pulsfrequenz min ⁻¹	40	40	36	40	36	40	40	28-40
Atemfrequenz min ⁻¹	10	10	10	10	8	12	10	8-16
Temperatur in °C	37,8	38,3	38,2	38,3	37,9	38,2	37,0	37,5-38,2
WBC x 10 ⁹ /L (ABC)	4,6	9,9	23,4	23,2	11,9	5,7	4,5	5,0-10,0
PNG x 10 ⁹ /L (ABC)	3,7	8,7	22,4	21,3	9,4	4,5	3,4	1,2-6,8
stabk. neutr. Gr. x10 ⁶ /L	1760	6579	13101	6025,5	566	1567,5	3091	0-600
Fib in mg/ml	270	240	260	295	350	320	295	150-300
Hp in mg/ml	5,6	5,3	5,7	5,8	6,3	6,8	6,9	0,6-3,7
SAA in µg/ml	3,1	2,6	131,5	432,4	622,4	594,4	450,7	0,3-2,7

In allen vier Gruppen konnte ein signifikanter Anstieg des WBC-Counts innerhalb der ersten 12 Stunden p. OP beobachtet werden. In Gruppe 4 befindet sich bereits der 0-Wert über dem oberen Referenzwert. In den Gruppen 1, 2 und 3 sinken die Werte nach ihrem Maximum 24 Stunden p. OP wieder ab und erreichen 72 Stunden p. OP das Niveau des 0-Wertes. In Gruppe 4 wird ebenfalls das Maximum 24 Stunden p. OP erreicht, woraufhin der WBC-Count zwar leicht abfällt, während des gesamten Beobachtungszeitraumes jedoch oberhalb des 0-Wertes dieser Gruppe verbleibt.

Die geringsten Veränderungen treten nach minimalinvasiven Eingriffen (Gruppe 1 und 2), gefolgt von Gruppe 3 auf, während sich in Gruppe 4 das klinische Bild der Wundheilungsstörung in einem erheblichen Anstieg der WBC-Count widerspiegelt. Zu erwähnen ist, dass die Mittelwerte des WBC-Counts nur in Gruppe 4 über dem Referenzwert liegen, und damit Einzelmessungen keine geeignete Grundlage für die Diagnostik lokal begrenzter entzündlicher Veränderungen darstellen. Gruppe 4 muss aufgrund des hohen 0-Wertes ($10,94 \pm 1,59 \cdot 10^9/\text{L}$) gesondert betrachtet werden.

Physiologisch erhöht ist der WBC-Count nach Anstrengung, Aufregung oder Angst (JAIN, 1986a). Der WBC-Count und das Differenzialblutbild sind außerdem altersabhängig. Dies kann eine Erklärung für den erhöhten WBC-Count zum

Zeitpunkt 0 in Gruppe 4 sein. Diese Tiere waren alle 2 Jahre alt und wurden in einem Laufstall mit wenig Kontakt zu Menschen gehalten. Zur Blutentnahme und zur Einleitung der Narkose mussten sie in einem Gatter eingefangen werden. Beim jungen Pferd besteht weiterhin die Möglichkeit, dass sich eine Leukozytose aufgrund einer Lymphozytose ausbildet (JAIN, 1986a). Die in dieser Gruppe signifikant höheren Werte können also auf eine Stressreaktion in Verbindung mit einer Wundinfektion zurückgeführt werden. Zwei Monate nach der Kastration der 12 Tiere kam es in diesem Bestand zu einem Ausbruch von Druse. Im Hinblick darauf kann die grundsätzlich erhöhte Gesamtleukozytenzahl auch auf einen erhöhten Infektionsdruck innerhalb einer Gruppenhaltung hindeuten.

Der WBC-Count reagiert innerhalb von 12 Stunden p. OP mit einem Anstieg, muss aber, da es in Gruppen ohne nennenswerte Komplikationen nicht zu einer Überschreitung des oberen Referenzwertes kam, in der Entzündungsdiagnostik als Verlaufsparemeter gesehen werden.

4.5.3 Differenzialblutbild

4.5.3.1 Polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PNG)

Die experimentelle Induktion einer Arthritis verursacht eine Erhöhung des WBC-Count und der PNG, wobei die PNG deutlicher anstiegen (HAWKINS et al., 1993). Die Messwerte aller vier Gruppen dieser Arbeit steigen deutlich innerhalb der ersten 12 Stunden p. OP an und erlangen Maximalwerte 24 Stunden p. OP. Die Gruppen 1, 2 und 3 kehren innerhalb von 72 Stunden p. OP auf die Höhe der Ausgangswerte zurück, während die Werte in Gruppe 4 nach 24 Stunden etwas zurückgehen, sich dabei aber immer noch deutlich über dem Referenzintervall bewegen. Dabei liegt der arithmetische Mittelwert der Gruppe 4 vor der Operation bereits an der oberen Referenzgrenze. Verantwortlich dafür könnte, wie schon bei der Gesamtleukozytenzahl erwähnt, das jugendliche Alter, die Stressreaktion oder eine latente Infektion sein. Eine Neutrophilie mit Linksverschiebung ist in Gruppe 2 bei Einzeltieren und deutlicher in Gruppe 4 zum Zeitpunkt 6 bis 12 Stunden p. OP zu

erkennen. Ein Eingriff in die Bauchhöhle (Gruppe 2) oder eine Kastration mit Wundheilungsstörungen (Gruppe 4) verursachen somit eine deutlichere Entzündungsreaktion als eine Arthroskopie (Gruppe 1) oder ein konventionell-chirurgischer Eingriff (Gruppe 3).

In allen Gruppen treten für eine Entzündung charakteristische Schwankungen der Granulozytenzahlen auf. Außer in Gruppe 1 (Arthroskopien) wird dabei innerhalb von 12 Stunden p. OP der obere Referenzwert überschritten.

4.5.3.2 Lymphozyten/Monozyten

Die durch eine Blutentnahme verursachte Stresssituation bei jungen, ungezähmten Tieren resultiert in einer deutlichen Erhöhung der Lymphozytenzahl, was auf die erhöhte Muskelaktivität und den damit erhöhten Blutfluss bzw. Lymphabfluss zurückgeführt werden kann (JAIN, 1986d). Das durch intravenöse Injektion von Dexamethason provozierte Stressblutbild zeigt andere Eigenschaften (JAIN, 1986d). Innerhalb von 2-4 Stunden kommt es bei so behandelten Tieren zu einer Leukozytose mit Neutrophilie, Lymphopenie und Eosinopenie. Dies lässt den Schluss zu, dass Adrenalin ein anderes, „adrenerges“ Stressblutbild erzeugt wie Kortisol.

Die deutliche Erhöhung der Lymphozyten- und Monozytenzahl in Gruppe 4 schon zu Beginn der Studie hat seine Ursache sehr wahrscheinlich zum einen in einer „adrenergen“ Stressreaktion der Pferde, zum anderen ist auch der deutlich höhere Infektionsdruck innerhalb einer Gruppenhaltung zu berücksichtigen. Daraus lässt sich ableiten, dass selbst große Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen keine eindeutigen Rückschlüsse auf eine entzündliche Reaktion zulassen. Dies gilt besonders dann, wenn nur punktuell Proben beurteilt werden können und keine Verlaufskontrolle möglich ist.

Die Lymphozytenzahl sinkt in allen vier Gruppen innerhalb von 6 Stunden p. OP signifikant ab und erreicht in den Gruppen 1, 2 und 3 48 Stunden p. OP das Ausgangsniveau. In Gruppe 4 ist zwar ebenfalls ein Anstieg zu erkennen, dieser ist aber nicht so deutlich wie in den anderen drei Gruppen.

Die Schwankungen der Monozytenzahl im Blut sind im Gruppenvergleich nicht statistisch signifikant und somit nicht für die Entzündungsdiagnostik verwendbar.

Die Lymphozytenzahl im peripheren Blut unterliegt neben entzündlich bedingten Schwankungen auch den Einflüssen verschiedener Stresshormone.

4.5.4 Thrombozyten (PLT)

Eine Thrombozytose kann beim Pferd primär aufgrund myeloproliferativer Störungen und sekundär aufgrund einer Vielzahl entzündlicher Erkrankungen auftreten. Verschiedene Infektionskrankheiten wie Equine Infektiöse Anämie, Ehrlichiose und Salmonellose sowie eine Septikämie können eine Thrombozytopenie beim Pferd hervorrufen. Die Thrombozytenzahl ist auch bei autoimmuner hämolytischer Anämie, disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC) und myeloischer Leukose erniedrigt (JAIN, 1986c; SELLON et al., 1997).

In den Gruppen 1 und 2 (minimalinvasive Eingriffe) schwankt die Thrombozytenzahl nur geringfügig. Pferde nach Kastration/Griffelbeinexstirpation (Gruppe 3) und besonders solche mit Wundheilungsstörungen (Gruppe 4) zeigen dagegen signifikante Schwankungen. Zunächst bewirkt die Operation einen Anstieg der Thrombozytenzahl (signifikant in Gruppe 4) innerhalb von 6 Stunden p. OP, dann sinken die Werte in beiden Gruppen bis 72 Stunden p. OP, um 7 Tage p. OP wieder leicht anzusteigen. Dabei bleiben die Mittelwerte mit Ausnahme einiger Ausreißer innerhalb der Referenzbereiche.

Die Thrombozytenzahl ist außer vom Patienten auch von der Handhabung der Probe abhängig. So kann es bei unvorsichtiger Abnahme oder zu langen Abständen zwischen Entnahme und Messung zu Thrombozytenaggregationen kommen, die die Resultate verfälschen.

Direkt nach einem Entzündungsstimulus ist eine Abnahme der Thrombozytenzahl aufgrund der Beteiligung von Thrombozyten an der lokalen APR zu erwarten (WEYRICH et al., 2003). Bei einer starken Entzündungsreaktion mit Anstieg von IL-6 sollte nach initialem Abfall eine reaktive Thrombozytose auftreten, da IL-6 unter

anderem die Reifung von Megakaryozyten im Knochenmark stimuliert. Dieser reaktive Anstieg kann innerhalb von 2-3 Tagen nach dem Stimulus eintreten (JAIN, 1986c; SELLON et al., 1997). Chronische infektiöse oder entzündliche Erkrankungen gehen dementsprechend mit einer Thrombozytose einher (SELLON et al., 1997). In der hier vorgestellten Arbeit konnte selbst nach den höchsten gemessenen IL-6 Konzentrationen (in Gruppe 2, 6 Stunden p. OP) innerhalb des Beobachtungszeitraumes keine Thrombozytose beobachtet werden. Vielmehr zeigten Pferde nach beiden minimalinvasiven Eingriffen (Gruppe 1 und 2) nur geringe Schwankungen.

Thrombozyten zeigen trotz ihrer wichtigen Rolle während der lokalen Entzündungsreaktion systemisch nur geringe Schwankungen im postoperativen Verlauf. Solche Veränderungen der Thrombozytenzahl sind hauptsächlich in den Gruppen 3 und 4 zu beobachten.

4.6 Diskussion der Proteinbestimmung

4.6.1 Interleukin-6 (IL-6)

Der Nachweis von Interleukin-6 (IL-6) gelang in dieser Arbeit mit einem Bioassay, welches zur Bestimmung von humanen IL-6 entwickelt wurde. Humanes und equines IL-6 stimmen in ihrer biologischen Aktivität und ihren Bindungsstellen weitgehend überein (SWIDERSKI et al., 2000). Die in der Literatur beschriebenen Nachweise von equinem IL-6 erfolgten fast ausschließlich mit dieser Methode (MACKAY und LESTER, 1992; ROBINSON et al., 1993; BASKETT et al., 1997; BARTON und COLLATOS, 1999). Als Standard wurde in dieser Arbeit rekombinantes humanes IL-6 verwendet. Allerdings ist der direkte Vergleich der absoluten Messwerte mit den in der Literatur verfügbaren nicht sinnvoll, da die Einheiten nicht standardisiert sind.

Nach Stimulation mit LPS ist ein reaktiver IL-6-Anstieg in vitro und in vivo innerhalb von 30 min bis 8 Stunden zu verzeichnen (MACKAY und LESTER, 1992; ROBINSON et al., 1993; BARTON et al., 1997). Equine Makrophagen produzieren und sezernieren IL-6 nach Stimulation durch LPS, IL-1 und TNF (MORRIS et al.,

1992a). Auch equine PNG reagieren mit einer deutlichen Ausschüttung von IL-6 nach Stimulation durch die genannten Moleküle (WEISS und EVANSON, 2002).

STEVERINK et al. (1995) konnten bei Pferden, welche einer Kolik-OP unterzogen wurden, eine Korrelation zwischen hohen intraoperativen IL-6 Werten und einer schlechten Prognose aufstellen. In den eigenen Untersuchungen ist auffällig, dass besonders hohe Messungen nur bei Pferden der Gruppe 2 und zwar bei Pferden nach Verschluss des Milz-Nieren-Raumes auftreten. Diese Erhöhung der IL-6 Konzentration ist innerhalb von 6 Stunden p. OP signifikant. Die Serumwerte sind innerhalb von 24 Stunden p. OP wieder ähnlich niedrig wie vor dem Eingriff. Bei einem Patienten steigt IL-6 trotz Verschluss des Milz-Nieren-Raumes nur geringfügig innerhalb der ersten 12 Stunden p. OP an. Die Ergebnisse legen nahe, dass die IL-6-Freisetzung im Körper abhängig ist von Art und Lokalisation des Eingriffes. So scheinen Eingriffe in die Peritonealhöhle des Pferdes stärkere Reaktionen hervorzurufen als die Traumatisierung von Bindegewebe (Kastration bzw. Griffelbeinexstirpation) oder Eröffnung eines Gelenkes. Allerdings können unter anderem auch Fibroblasten und Osteoklasten neben den Zellen des Immunsystems IL-6 freisetzen (Kap. 2.1.2.3.2.5).

Zu Verdeutlichung der Ausführungen wird der Fall eines 9 jährigen Warmblutwallachs vorgestellt, der in der Tierklinik Starnberg einer diagnostischen Laparoskopie unterzogen wurde. Bei der klinischen Untersuchung wurde 6 Stunden p. OP eine geringgradige Störung des Allgemeinbefindens, einhergehend mit geringgradiger Wundschwellung und Schmerzhaftigkeit festgestellt. Nachfolgend werden die Parameter dargestellt, welche sich außerhalb des Referenzbereiches bewegten.

Tab. 14: Hämatologische Parameter welche bei Pferd E erhöht waren. Fett gedruckt sind die außerhalb des Referenzbereiches liegenden Messwerte

Parameter	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	Referenzbereich
PLT x 10 ⁹ /L (ABC)	98	95	106	71	66	84	100-300
PNG x 10 ⁹ /L (ABC)	3,3	4,1	7,2	6,7	4,3	4,1	1,2-6,8
Fib (QBC) in mg/ml	346	316	339	390	553	461	150-450
Fib (CLAUSS) in mg/ml	245	350	260	310	325	350	150-300
Hp in mg/ml	3,6	3	4	5,5	8,5	8,3	0,6-3,7
SAA in µg/ml	2,9	6,3	126,3	434,7	586,2	672,7	0,3-2,7
IL-6 IU/ml	41	1517	952	248	86	84	60,9 ± 3,2

Da das zur Verfügung stehende Nachweisverfahren mittels eines Bioassays sehr zeitaufwendig ist (Dauer ca. 3 Tage) und der Anstieg des IL-6 innerhalb von 6 Stunden p. OP erfolgt, ist dieser Parameter zurzeit nur eingeschränkt als diagnostischer Parameter der akuten Entzündungsreaktion nutzbar. In der Humanmedizin stehen inzwischen verschiedene Schnelltests auf immunologischer Basis (Antikörper) zur Verfügung. Falls diese Testsysteme in Zukunft auch beim Pferd einsetzbar sein werden, bieten sich viele Einsatzmöglichkeiten für IL-6 in der Diagnostik von Kolikpatienten und in der Sepsisdiagnostik beim Neonaten an.

IL-6 steigt beim Pferd in Folge von Eingriffen und Erkrankungen im Bereich der Peritonealhöhle und nach Verabreichung von Endotoxin stark an. Diese Reaktion auf einen Stimulus beginnt in einem Zeitfenster zwischen 30 Minuten bis 8 Stunden. Nach minimalinvasiven Eingriffen in die Bauchhöhle kehrt die IL-6 Konzentration im Plasma innerhalb von 48 Stunden wieder nahezu auf den Ausgangswert zurück.

4.6.2 Totalplasmaprotein (TPP), Albumin und Globulin

Im Verlauf der postoperativen Phase steigt der Totalplasmaproteingehalt (TPP) geringfügig an, was in Verbindung mit dem sinkenden Albuminanteil zum Anstieg der Globulinfraction führt (ALLEN und KOLD, 1988). Dies wird verständlich, wenn man berücksichtigt, dass die positiven APP zur Globulinfraction gehören. Abhängig vom Entzündungsreiz kann schon 4 Stunden nach der experimentellen Induktion einer Fütterungsreihe bei Ponys eine Erhöhung des TPP auftreten (FAGLIARI et al., 1998). Im Gegensatz dazu beobachten PATTERSON et al. (1988) innerhalb der ersten 12 Stunden nach Entzündungsinduktion bei 4 Pferden ein Absinken des TPP-Gehaltes, welcher nachfolgend ebenfalls ansteigt. Bei allen Gruppen dieser Untersuchung stieg der TPP-Gehalt im Plasma an. Dabei zeigen die Kurvenverläufe der Gruppen 1 und 2 keine Signifikanzen. In Gruppe 3 ist der Anstieg 12 Stunden p. OP signifikant, gefolgt von Gruppe 4 24 Stunden p. OP mit insgesamt deutlich höheren Werten als in den ersten drei Gruppen. Allerdings muss bei der Interpretation berücksichtigt werden, dass die Lagerung der Proben Einfluss auf die Werte genommen haben kann. Nicht frische Proben korrelieren zwar mit den frischen Proben, allerdings sind deutliche Abweichungen der Einzelparameter nach Doppelbestimmung (ebenfalls unabhängig von Lagerung und Alter der Probe) zu verzeichnen. Auch eine geringe Präzision der Methode kann die Ergebnisse beeinflussen.

Die Albuminkonzentration sinkt im Plasma der Pferde in allen vier Gruppen, allerdings nie unter das untere Referenzlimit. Die Abweichung vom Ausgangswert beträgt bei ALLEN und KOLD (1988) 8 Tage nach einer Arthrotomie ca. 3 %, während AUER et al. (1989) von einem Absinken von 15 % unter den Ausgangswert berichten. Ein Tag nach Entzündungsinduktion war eine sinkende Albuminkonzentration registrierbar. Nach Induktion einer Laminitis konnte ebenfalls 4-12 Stunden später eine geringe Erhöhung des Albumins verzeichnet werden (FAGLIARI et al., 1998).

Die eigenen Untersuchungen sind in diesem Punkt nicht eindeutig. Albumin sinkt nicht bei jeder Gruppe unter das Ausgangsniveau, sondern die Pferde mit den wenigsten (Gruppe 1) und die mit den meisten Entzündungserscheinungen (Gruppe 4) zeigen innerhalb der Beobachtungszeit eher einen Anstieg. In Gruppe 2 erniedrigt sich Albumin 7 Tage p. OP um 22 % und in Gruppe 3 beträgt die Abnahme 7 Tage p. OP 13 %. Damit wird die 30 %-Hürde zur Bezeichnung als negatives APP nicht überwunden.

Neben einer verminderten Produktion von Albumin in der Leber zugunsten der positiven APP in den Gruppen 2 und 3 kann für das Absinken der Konzentration auch ein erhöhter Verlust von Albumin in die Bauchhöhle verantwortlich gemacht werden. Diese Theorie sollte durch weitere Studien untermauert werden.

Die Berechnung des Plasmaglobulingehaltes ergab zwischen den Gruppen deutlich unterschiedliche Werte, innerhalb der Gruppen jedoch keine eindeutige Veränderung während des Beobachtungszeitraumes.

TPP, Albumin und Globulin zeigen während der akuten Entzündungsreaktion nur geringe Schwankungen und spielen deswegen für die Entzündungsdiagnostik in diesem Zeitraum eine untergeordnete Rolle.

4.6.3 Serum Amyloid A (SAA)

SAA ist ein APP des Pferdes, welches bei infektiösen und nicht infektiösen Entzündungen um das 15– bis 20-fache ansteigt (NUNOKAWA et al., 1993). Nach der Kastration von 6 Pferden erhöhen sich die SAA-Werte innerhalb von 6 Stunden p. OP, erreichen Höchstwerte 24 Stunden p. OP und sinken auf die Höhe der Anfangswerte innerhalb von 3 Wochen ab, verbunden mit dem Abklingen der lokalen Entzündung (NUNOKAWA et al., 1993). Nach einer bedeckten Kastration kommt es laut HULTEN et al. (1999) zu einem Anstieg von SAA mit einem Maximum am 2. Tag p. OP. Der Vergleich von Pferden nach Kastration mit oder ohne Wundheilungsstörungen zeigt in beiden Gruppen einen signifikanten Anstieg innerhalb von drei Tagen p OP. Acht Tage p OP sinken die SAA-Werte bei Pferden ohne Wundheilungsstörungen ab, wohingegen sie bei Pferden mit Wundheilungsstörungen weiter ansteigen (JACOBSEN et al., 2005a). Dies entspricht den Beobachtungen, die in den Gruppen 3 und 4 getroffen wurden. POLLOCK et al. (2005) untersuchten den Einfluss von chirurgischen Eingriffen auf SAA, Haptoglobin und Fibrinogen. Dabei wurde zwei Gruppen gebildet. In die erste Gruppe wurden Pferde aufgenommen, die vor der Operation keine Anzeichen einer Entzündung zeigten, Gruppe 2 beinhaltet Pferde, die vor dem chirurgischen Eingriff ein gestörtes Allgemeinbefinden zeigten. Dies führte zu einer sehr inhomogenen

Gruppengestaltung bezüglich der chirurgischen Eingriffe, weshalb die in dieser Studie berechneten Gruppenunterschiede hier nicht diskutiert werden. Insgesamt induzierte ein chirurgischer Eingriff innerhalb von 12 Stunden einen signifikanten Anstieg von SAA (POLLOCK et al., 2005).

SAA ist aufgrund seines niedrigen Serumspiegels bei gesunden Tieren und seines schnellen Anstiegs nach einem Trauma ein optimales APP. Die Konzentrationsveränderungen sind auf eine gesteigerte Syntheserate zurückzuführen und kaum durch Störfaktoren zu beeinflussen, wie z.B. eine Hämolyse, die die Haptoglobinkonzentration im Blut senkt. Das in dieser Arbeit verwendete Testsystem zeigt keine Beeinflussung der Ergebnisse durch Hämoglobin und Bilirubin (WADA et al., 1997).

Nachfolgend werden zwei Pferde aus der Gruppe der Kastrationen miteinander verglichen. Pferd A, ein 5 jähriger Warmbluthengst und Pferd B, ein 2,5 Jahre alter Ponyhengst. Pferd A durchläuft eine unauffällige Heilungsphase, während Pferd B 12 Stunden p. OP eine deutliche Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens zeigt. Pferd B muss 24 Stunden p. OP mit Penicillin-Streptomycin und Analgetika behandelt werden.

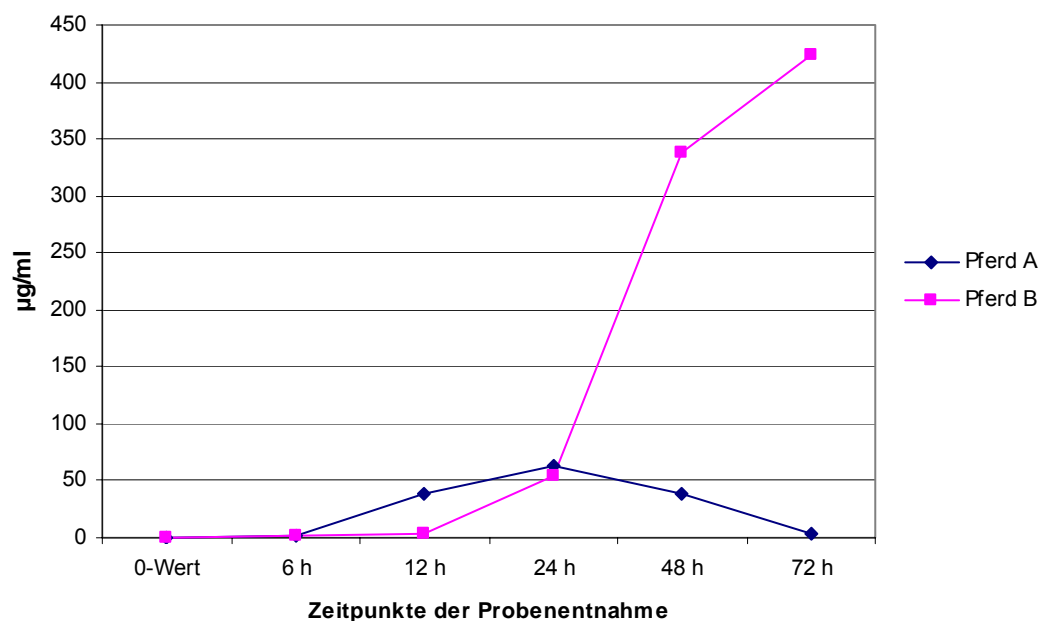


Diagramm 30: SAA-Werte der Pferde A und B (in µg/ml)

Tab. 15: Ausgewählte Messwerte der klinischen, hämatologischen und serologischen Parameter von Pferd A und B. Fett gedruckt sind die Messwerte, welche den Referenzbereich überschreiten

Parameter	0	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	Referenzbereich
Pfd. A: Temperatur in °C	37,8	38,0	37,9	38,0	37,6	37,5	37,5-38,2
Pfd. B: Temperatur in °C	37,8	38,6	39,5	40,6	38,4	39,7	37,5-38,2
Pfd. A: WBC x 10 ⁹ /L	6	7,4	8,4	7,9	8,4	7,5	5,0-10,0
Pfd. B: WBC x 10 ⁹ /L	6,1	8,6	9,8	9,9	11,6	10,5	5,0-10,0
Pfd. A: Fib in mg/ml	180	185	200	225	240	245	150-300
Pfd. B: Fib in mg/ml	205	225	222	255	315	437	150-300
Pfd. A: SAA in µg/ml	0,7	1,4	39,1	62,6	38,4	4	0,3-2,7
Pfd. B: SAA in µg/ml	0,7	0,9	2,9	54,1	337,1	423,2	0,3-2,7
Pfd. A: Hp in mg/ml	1,7	1,5	1,8	2	2,2	2,2	0,6-3,7
Pfd. B: Hp in mg/ml	3,1	3,5	3,5	3,4	4,7	6,6	0,6-3,7

Wie in Tab. 15 und Diagramm 30 dargestellt, zeigt Pferd B bereits 6 Stunden p. OP eine erhöhte Körpertemperatur. Achtundvierzig Stunden p. OP übersteigt der WBC-Count gemeinsam mit Fib und Hp das obere Referenzlimit bei Pferd B, wohingegen Pferd A während des Beobachtungszeitraumes keine Überschreitung der oberen Referenzgrenze dieser Parameter zeigt. Bei Betrachtung des SAA-Konzentrationsverlaufes ist 12 Stunden p. OP bei Pferd A und B (hier nur sehr gering) eine Überschreitung des oberen Referenzwertes von 2,7 µg/ml zu sehen. Während bei Pferd A im weiteren Verlauf nur eine moderate Erhöhung auftritt, welche 72 Stunden p. OP wieder absinkt, zeigt Pferd B bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes ansteigende SAA-Werte.

Der an 50 gesunden Tieren ermittelte Referenzbereich von $1,5 \pm 1,2$ µg/ml wird durch die Untersuchung von VANDENPLAS et al. (2005) bestätigt. Der in der genannten Studie gemessene Referenzbereich ist $4,5 \pm 11,4$ µg/ml bei 79 gesunden Tieren (VANDENPLAS et al., 2005).

In allen vier Gruppen dieser Arbeit ist die Entzündungsreaktion anhand signifikant steigender SAA-Werte zu erkennen. Innerhalb von 12 Stunden p. OP sind das die Gruppen 1 (Arthroskopie) und die Gruppe 3 (Kastration/Griffelbeinexstirpation), gefolgt von den Gruppen 2 (Laparoskopie) und 4 (Kastrationen mit Wundheilungsstörung) 24 Stunden p. OP. Höchstwerte erreichen die Gruppen 1, 2 und 3 innerhalb von 72 Stunden p. OP, während die SAA-Konzentration in Gruppe 4 auch 7 Tage p. OP noch eine steigenden Tendenz zeigt. Gruppenunterschiede sind nur 7 Tage p. OP zu beobachten. In Gruppe 1 fallen die Messwerte danach stark ab, so dass sie sich innerhalb des durch die Referenzgruppe berechneten Intervalls von 0,3-2,7 µg/ml befinden. Dieses Intervall besteht aus dem arithmetischen Mittelwert und der Standardabweichung.

Der signifikante Anstieg in allen vier Gruppen entspricht mit einer Zeitverzögerung von 6 bis 12 Stunden den Angaben von NUNOKAWA et al. (1993) für Kastrationen. Nach Induktion einer aseptischen Arthritis mit Amphotericin B konnten HULTEN et al. (2002) eine systemische APR mit Höchstwerten von ca. 150 µg/ml 48 Stunden nach der Injektion erzeugen. Am 5. Tag nach Induktion der Entzündung waren die Werte bereits wieder auf 50 µg/ml gesunken. Zusätzlich zeigten diese Tiere 24 Stunden nach der Injektion eine Körpertemperatur von 38,5°C. Pferde in Gruppe 1 (Arthroskopie) zeigen einen ähnlichen Verlauf, mit etwas höheren SAA-Werten und niedrigerer Körpertemperatur. Allerdings wurde von HULTEN et al. (2002) ein anderes Nachweisverfahren verwendet.

Der Anstieg von SAA im Serum infolge einer Laparoskopie (Gruppe 2) im Rahmen dieser Untersuchung könnte auf mögliche extrahepatische Syntheseorte oder vorangegangene Reizungen durch eine rezidivierende Kolik (Indikation für eine diagnostische Laparoskopie) oder Laparotomie (Kolikursache) in der Peritonealhöhle hindeuten. Beim Menschen sind extrahepatische Syntheseorte wie Makrophagen, Endothel- und glatte Muskelzellen bekannt (JENSEN und WHITEHEAD, 1998). Für die Theorie der Reizung sprechen die im Vergleich zu den anderen Gruppen hohen 0-Werte (22,3 µg/ml in Gruppe 2 verglichen mit 2,7 µg/ml in Gruppe 1; 9,7 µg/ml in Gruppe 3; 0,7 µg/ml in Gruppe 4) und die bei den Pferden mit laparoskopischem Verschluss des Milz-Nieren-Raumes vorhergegangene Laparotomie 14 Tage bis 6 Wochen zuvor (s. Kap. 3.1.5.3).

SAA empfiehlt sich als schnell reagierendes und spezifisches APP in der Diagnostik infektiöser und nicht infektiöser Entzündungen.

Serum Amyloid A steigt in allen vier Gruppen signifikant an. Die Konzentrationsänderungen ist in ihrem Ausmaß abhängig von der Lokalisation (Gruppe 1 ↔ Gruppe 2) und dem Grad der Entzündung (Gruppe 3 ↔ Gruppe 4). Durch den schnellen Anstieg sowie, entsprechend der abnehmenden Entzündungsreaktion, wieder sinkenden Serumkonzentration (Gruppe 1) bietet es sich als Parameter der akuten Entzündungsreaktion des Pferdes an.

4.6.4 Haptoglobin

Weichteilentzündungen verursachen einen Haptoglobinanstieg innerhalb von zwei bis 5 Tagen um das 1,5- bis 9-fache (TAIRA et al., 1992a). TAIRA et al. (1992a), POLLOCK et al. (2005) und das Labor von Tridelta (Hersteller des verwendeten Haptoglobinassays) beobachteten eine Altersabhängigkeit der Haptoglobinreferenzwerte. HARVEY et al. (1984) hingegen fanden die Haptoglobinwerte von Neonaten im gleichen Referenzintervall wie die adulter Tiere mit Ausnahme von der 2. Lebenswoche, in welcher Sie niedrigere Werte bestimmten. Bei der Altersabhängigkeit hinsichtlich dieses Parameters besteht weiterer Klärungsbedarf. Am wahrscheinlichsten ist eine altersabhängige Schwankung des Haptoglobins, da bei gleichzeitiger Bestimmung von SAA und Fibrinogen die beiden letzteren Parameter altersunabhängig erschienen. Damit kann eine entzündungsbedingte Erhöhung des Haptoglobins beim Fohlen weitgehend ausgeschlossen werden (POLLOCK et al., 2005).

Equines Haptoglobin gehört zu den positiven APP. Allerdings fällt der Haptoglobinserumspiegel im Rahmen einer hämolytischen Anämie, Bilirubinämie und Hyperlipidämie ab (ALLEN und ARCHER, 1971).

Die Haptoglobinkonzentration im Blut sinkt in Folge einer Anästhesie, unabhängig davon, ob ein Eingriff vorgenommen wird oder nicht (KENT und GOODALL, 1991). Diese kurzzeitige Schwankung, welche sich in den ersten 24 Stunden nach der Anästhesie abspielt, ist in jeder Gruppe dieser Studie (auch nach der Sedierung in Gruppe 2) zu erkennen. Nach 24 Stunden p. OP beginnt Haptoglobin in allen vier Gruppen zu steigen. Diese Konzentrationsänderung ist 48 Stunden p. OP signifikant. Am 7. Tag p. OP zeigen die Haptoglobinkonzentrationen der vier Gruppen unterschiedliche Tendenzen. Während die Werte in Gruppe 1 und 3 im Vergleich zu

den 72 Stundenwerten etwas zurückgehen, steigen sie in den Gruppen 2 und 4 noch an. Für Gruppe 1 und 3 bedeutet das, dass der Entzündungsreiz am 7. Tag p. OP bereits abgenommen hat, d.h. die Produktion von Hp in der Leber reduziert wird. In Gruppe 4 gehen die weiter zunehmenden Haptoglobinwerte konform mit dem klinischen Bild (Fieber und Wundheilungsstörung) und markieren damit labordiagnostisch ein Anhalten der Entzündungsreaktion. Gruppe 2 (Laparoskopie) zeigt insgesamt wenig Störungen des Allgemeinbefindens und die lokalen Anzeichen einer Entzündung sind gar nicht oder nur geringgradig vorhanden. Trotzdem sind die Hp-Ergebnisse gleich hoch wie die in Gruppe 4. Die experimentelle Induktion einer aseptischen Arthritis verursacht eine Verlaufskurve, die der von Gruppe 1 im Verlauf und in den Werten gleicht (HULTEN et al., 2002). Haptoglobin steigt nach Kastrationen bei NUNOKAWA et al. (1993) höher, im Verlauf aber gleich an. Verschiedenste chirurgische Eingriffe induzieren eine Erhöhung der Haptoglobinkonzentration im Plasma (POLLOCK et al., 2005).

Haptoglobin bietet sich als moderates APP zur Verlaufskontrolle der postoperativen Phase, beginnend 2 bis 3 Tage nach dem Eingriff, an und zeigt dann je nach Eingriff und Wundheilungsverlauf steigende oder fallende Tendenzen.

4.6.5 Fibrinogen

Fibrinogen ist ein weithin bekanntes, aufgrund einfacher Nachweismethoden beliebtes APP. Erste Konzentrationsanstiege können schon 24 Stunden nach einem Stimulus beobachtet werden. Zeichen einer starken Entzündung sind Serumkonzentrationen, die den Referenzwert um das 2- bis 3-fache übersteigen (ALLEN und KOLD, 1988; HULTEN et al., 2002; FEIGE et al., 2003; JACOBSEN et al., 2005a). Chirurgische Eingriffe steigern den Plasmafibrinogenspiegel (POLLOCK et al., 2005).

Nachteil des Fibrinogens als APP ist die relativ hohe physiologische Konzentration im Plasma gesunder Tiere und der im Vergleich zum SAA geringe Konzentrationsanstieg. Die Fibrinogenbestimmung kann durch gesteigerten Verbrauch innerhalb der Gerinnungskaskade zu falsch negativen Ergebnissen

führen, ebenso wie gerinnungshemmende Medikamente auf einige Bestimmungsmethoden (Koagulationsmethode nach CLAUSS) Einfluss nehmen können.

Bei Messung mit der Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) sind die Konzentrationssteigerungen in den Gruppen 1 und 3 24 Stunden p. OP signifikant, gefolgt von den Gruppen 2 und 4 48 Stunden p. OP. 7 Tage p. OP zeigen die Gruppen 2 und 4 weiter steigende Tendenzen, wohingegen die Gruppen 1 und 3 geringere Werte aufweisen als 72 Stunden p. OP. Abgesehen von den Absolutwerten, sind die Kurvenverläufe nahezu identisch mit den durch die Hitzepräzipitation gewonnen Ergebnissen.

Eine Ausnahme bildet die Gruppe 4. Deren Fibrinogenwerte übersteigen mit der Methode nach CLAUSS (1957) 7 Tage p. OP die obere Referenzgrenze von 300 mg/ml. Bei Verwendung der Hitzepräzipitation überschreiten die Werte die obere Referenzgrenze von 450 mg/dl bereits 48 Stunden p. OP. Die mit der Hitzepräzipitation bestimmten Fibrinogenwerte steigen also vor allem bei Kastrationen mit nachfolgenden Wundheilungsstörungen früher und deutlicher an als die Werte, welche mit der Koagulationsmethode nach CLAUSS (1957) gemessen wurden. Ursachen für die mangelnde Übereinstimmung wurden bereits in Kap. 2.1.3.3 diskutiert und können durch veränderter Gerinnungsfähigkeit des Fibrinogens oder dem Vorliegen von Fibrinogenabbauprodukten während einer Entzündung erklärt werden (HOEGEE-DE NOBEL et al., 1988; BRUGMANS et al., 1998; MISCHKE et al., 2000). Trotz dieser Diskrepanz kann mit beiden Methoden anhand einer Verlaufskontrolle eine beginnende Entzündungsreaktion spätestens nach 48 Stunden erkannt werden. Der Vergleich der Fibrinogenwerte nach Kastration mit und ohne Wundheilungsstörung durch JACOBSEN et al. (2005a) ergab ähnliche Ergebnisse, wie die der Gruppen 3 und 4. Drei Tage nach der Kastration kam es bei Pferden ohne Wundheilungsstörung zu einem signifikanten Fibrinogenanstieg. Ein Konzentrationsabfall konnte in dieser Patientengruppe 8 Tage p OP beobachtet werden, wohingegen bei Pferden mit Wundheilungsstörungen nach Kastration deutlich erhöhte Fibrinogenwerte gemessen wurden (JACOBSEN et al., 2005a).

Fibrinogen eignet sich durch die relativ lange Induktionszeit und den eher moderaten Anstieg besser für die Verlaufskontrolle eines Entzündungsprozesses bis zur Genesung als für die Diagnostik einer akuten Entzündung.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Diagnostik entzündlicher Erkrankungen unter klinischen Bedingungen gestaltet sich im Vergleich zur experimentellen Entzündungsinduktion schwierig. Die Messung der Körperinnentemperatur hat sich erneut als ein wichtiges Hilfsmittel der klinischen Entzündungsdiagnostik hervorgetan. Das Aufflammen einer akuten Entzündung lässt sich bis jetzt beim Pferd am sichersten mit einer Verlaufskontrolle der Körperinnentemperatur erfassen.

Unterschiedliche Operationsmethoden und Therapien, sowie Alters-, Rasse- und Geschlechtsunterschiede beeinflussen die APR. Trotz dieser Widrigkeiten konnten statistisch signifikante Beobachtungen erzielt werden. Die klassischen Parameter wie die Gesamtleukozytenzahl, das Differenzialblutbild und die Fibrinogenbestimmung zeigen zwar im Verlauf deutliche Veränderungen, wie sie während einer Entzündungsreaktion erwartet werden, allerdings übertreffen dabei die Mittelwerte selten die oberen Referenzgrenzen. Somit sind diese Parameter bei Einzelmessungen schwierig zu interpretieren.

Wenn es zu einem IL-6 Anstieg nach einem Eingriff kommt, geschieht dies innerhalb von 6 Stunden, wobei diese Werte das ca. 40-fache des 0-Wertes erreichen. Das Referenzintervall dieser Untersuchung, gemessen bei 6 gesunden Wallachen beträgt $60,9 \pm 3,2$ IU/ml. Die Werte kehren innerhalb von 24 Stunden zum Ausgangswert zurück.

SAA zeigt einen signifikanten Anstieg der Serumkonzentration innerhalb der ersten 12 Stunden. Der Verlauf der SAA-Werte während des Beobachtungszeitraumes zeigt sich abhängig von der Art des Eingriffes und etwaigen Komplikationen. Sieben Tage nach einer Arthroskopie sind die Werte innerhalb des Referenzintervalles (0,3 - 2,7 µg/ml), wohingegen sie nach Kastrationen mit anschließenden Wundheilungsstörungen zu diesem Zeitpunkt steigende Tendenzen zeigen.

Haptoglobin steigt während einer Entzündungsreaktion um das 2- bis 3-fache des Ausgangswertes an (0,6-3,7 mg/ml). Diese Reaktionen sind vor allem in Gruppe 2 und 4 zu beobachten, während in den Gruppen 1 und 3 zum Ende der Beobachtungszeit ein leichter Abfall erkennbar ist. Aufgrund seines mittelgradigen Anstiegs während einer Entzündungsreaktion ist es ein moderates APP des Pferdes,

so dass eine Verlaufskontrolle sinnvoll erscheint, um das Absinken im Falle einer Heilung bzw. das Ansprechen auf eine Antibiotikatherapie zu erkennen.

Auch Fibrinogen ist ein moderates APP, welches abhängig von der Bestimmungsmethode und dem Schweregrad der Entzündungsreaktion signifikant nach operativen Eingriffen ansteigt.

Die Bestimmung von APP in anderen Bereichen der Veterinärmedizin lässt auch ein weites Einsatzspektrum in der Pferdeheilkunde erwarten. Serum Amyloid A (SAA) und Haptoglobin (Hp) sind bei Wiederkäuern z.B. besser zur Differenzierung zwischen akuten und chronischen Entzündungen geeignet als hämatologische Parameter (HORADAGODA et al., 1999). Auch in der Bestandsbetreuung von lebensmittelliefernden Tieren und in großen Gestüten kann die Bestimmung von APP einen enormen Beitrag zur Erkennung von latenten Infektionen und Managementfehlern, z.B. in der Fütterung, leisten (KENT und GOODALL, 1991; LIPPERHEIDE et al., 1998).

Kommt es nach verschiedenen chirurgischen Eingriffen zur Induktion einer systemischen Akute Phase Reaktion?

Jedes Pferd, welches im Rahmen dieser Studie einer Operation unterzogen wurde, zeigte eine APR.

Eignen sich Akute Phase Proteine als diagnostische Parameter nach chirurgischen Eingriffen?

IL-6, SAA, Haptoglobin und Fibrinogen eignen sich als diagnostische Parameter. IL-6 steigt besonders nach laparoskopischem Verschluss des Milz-Nieren-Raumes an. Da aber der Bioassay zur Bestimmung von IL-6 noch keine schnelle Bestimmung (Testdauer mind. 3 Tage) zulässt, ist eine klinische Diagnostik und Differenzierung der ablaufenden Entzündungsreaktion am besten mit der Bestimmung eines major APP (SAA) und eines oder mehrerer moderater APP (Hp und Fib) durchführbar. SAA reagiert innerhalb von 12 Stunden mit einem deutlichen Anstieg. In Kombination mit Fibrinogen und/oder Haptoglobin zeigen sinkende Werte 72 Stunden p. OP einen unkomplizierten Heilungsverlauf an, während bei Tieren mit Wundheilungsstörungen Haptoglobin und SAA weiter ansteigen. Daneben unterstreichen die vorliegenden Untersuchungen die Bedeutung der Kontrolle der Körpertemperatur beim Pferd.

Ist die Akute Phase Reaktion abhängig von der Art des Eingriffes?

Unterschiede der APR zeigen sich zwischen den einzelnen Eingriffen bezüglich der IL-6-Konzentration, SAA, Haptoglobin und Fibrinogen. IL-6 zeigt einen signifikanten Anstieg nach laparoskopischem Verschluss des Milz-Nierenraumes. SAA und Haptoglobin steigen in den Gruppen 2 und 4 höher an als in den Gruppen 1 und 3. Insbesondere die Bestimmung von SAA zeigt deutliche Gruppenunterschiede. Bei der Bestimmung von Fibrinogen zeigen sich 72 Stunden nach dem Eingriff steigende Werte in den Gruppen 3 und 4, während sie in den Gruppen 1 und 2 sinken. Dies spricht für eine Abhängigkeit der APR von der Art und Lokalisation des Eingriffes.

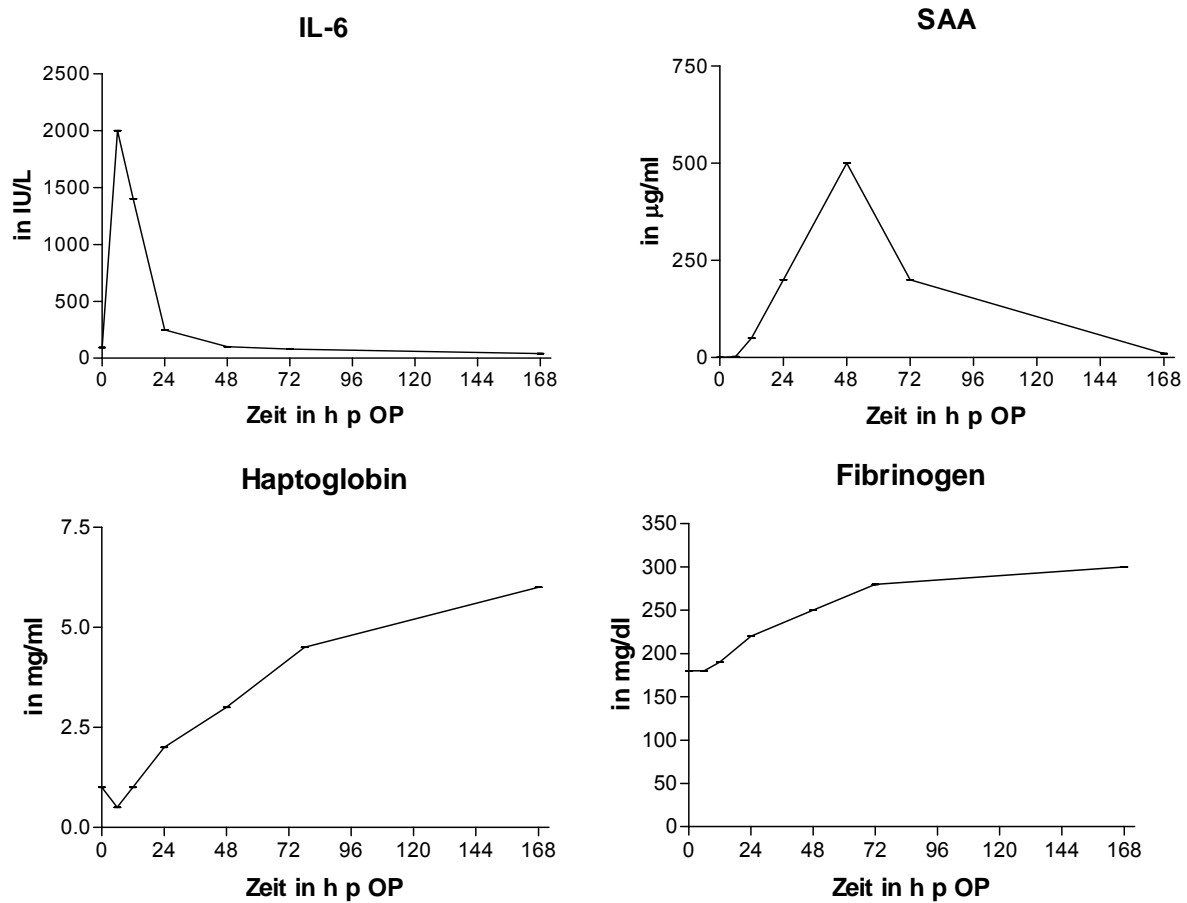


Diagramm 31: Schematischer Verlauf der Serumkonzentration von IL-6, SAA, Haptoglobin und Fibrinogen

6 SUMMARY

Diagnosis of inflammation in clinical environment is more difficult than recognizing inflammatory changes induced under experimental conditions. Determining the body temperature has again proven to be an important tool in inflammatory diagnosis under clinical conditions. The rise of an acute inflammation after surgery is monitored in the best way by measuring the body temperature in its timecourse.

The APR is influenced by age, race and gender, as well as by different surgical procedures and therapies. Despite this adverse circumstances statistical significant observations were made. Parameters such as WBC-Count, differential blood cell count and determination of fibrinogen show changes in the postoperative period, like they were expected to, but the mean values exceeded the upper reference ranges rarely. For that reason interpretation of a single measurement of these parameters is difficult.

If there is an elevation in IL-6 concentration post surgery, the increase is seen within 6 hours post surgery and the values return to baseline levels within 24 hours post surgery. The reference range in this investigation is $60,9 \pm 3,2$ IU/ml, measured in 6 healthy geldings. The total observed increase is approximately 40 times the baseline value.

SAA increases significantly within the first 12 hours post surgery. The course of the SAA concentration in the post surgical period depends on the kind of surgery and eventual complications. The SAA concentration decreases and reaches the reference range (0,3 - 2,7 µg/ml) within 7 days after arthroscopy, while it shows an increase at this point in horses after castration followed by postsurgical complications (group 4).

Haptoglobin concentration rises after surgery within 48 hours 2 to 3 times of the baseline values (0,6-3,7 mg/ml). This reaction is especially seen in groups 2 and 4, while groups 1 and 3 show decreasing values at the end of the observation period. Haptoglobin is for that reason a moderate APP of the horse. It seems to be a useful parameter for monitoring recovery or the usefulness of an antibiotic therapy. Appealing to therapy would be seen in decreasing haptoglobin values.

Fibrinogen is also an moderate APP of the horse. Its plasma concentration increases significant within 24 to 48 hours post surgery, while the total amount of increase depends on the measuring method and the surgical procedure.

The use of APP in other veterinary branches lets expect an great share in equine medicine in the future. SAA and haptoglobin are for example more useful in differentiating between acute and chronic inflammation in cattle than hematologic parameters (HORADAGODA et al., 1999). In herd surveillance of food animals and in studfarms the determination of APP's support the recognition of latent stage infections or management mistakes, for example in feeding (KENT und GOODALL, 1991; LIPPERHEIDE et al., 1998).

Is the equine acute phase reaction induced by different surgical procedures?

Every horse enrolled in this investigation that underwent a surgical procedure showed an acute phase reaction.

Are acute phase proteins suitable diagnostic parameters after surgical intervention?

IL-6, SAA, haptoglobin and fibrinogen are valueable diagnostic tools in horses. As the dermination of IL-6 lasts 3 days, it can not be used for clinical diagnosis and differentiation of an occuring inflammation. For that case determing an major (SAA) and an moderate APP (haptoglobin and fibrinogen) is an possibility. SAA reacts within 12 hours with an distinct increase. Decreasing values 72 hours post surgery show, in combination with fibrinogen and/or haptoglobin, a uncomplicated course of regeneration, while in animals with complication in recovery SAA and haptoglobin increase furthermore. This investigation shows once more the importance of controlling body temperature in the horse.

Is the acute phase reaction depending on the kind of surgery?

The different surgical procedures investigated here show differences refering IL-6 concentration, SAA, haptoglobin and fibrinogen. IL-6 increases in particular after laparoscopic closure of the spatium lieno-renale. SAA and haptoglobin show an higher increase in groups 2 and 4 than in groups 1 and 3. Particularly determing SAA shows significant different reaction regarding the surgical procedure. Fibrinogen increases 72 hours post surgery in group 3 and 4, while sinking values can be observed in group 1 and 2. This supports the suggestion that the APR after surgery is depending on the kind and localisation of the procedure.

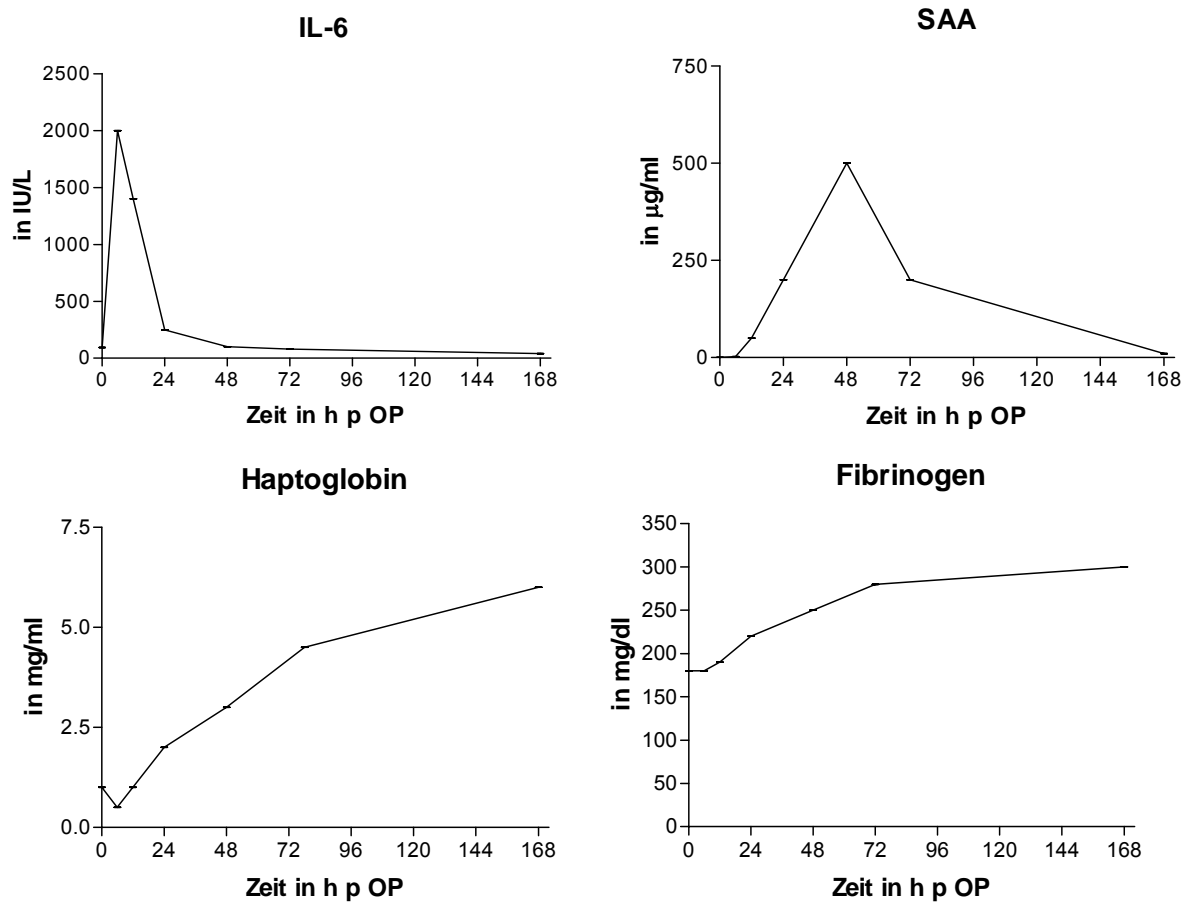


Diagramm 32: Course of serum concentration of IL-6, SAA, Hp, Fib

7 LITERATURVERZEICHNIS

ALLEN, B. und ARCHER, R. K. (1971):
Haptoglobins in the horse.

Vet. Rec., 89, 4, S. 106 - 109.

ALLEN, B. V. und BLACKMORE, D. J. (1984):

Relationship between paired plasma and serum viscosity and plasma proteins in the horse.

Res. Vet. Sci., 36, 3, S. 360 - 363.

ALLEN, B. V. und KOLD, S. E. (1988):

Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse.

Equine Vet. J., 20, 6, S. 441 - 443.

ALSEMGEEST, S. P.; KALSBECK, H. C.; WENSING, T.; KOEMAN, J. P.; VAN EDEREN, A. M. und GRUYS, E. (1994):

Concentrations of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (HP) as parameters of inflammatory diseases in cattle.

Veterinary Quarterly, 16, 1, S. 21 - 23.

ANDUS, T.; GEIGER, T.; KLAPPROTH, J.; KUNZ, D.; HEISIG, M.; CASTELL, J. und HEINRICH, P. C. (1988):

Regulation of α_2 -macroglobulin gene expression by interleukin-6 (BSF-/HSF).

Tokai. J. Exp. Clin. Med., 13, 6, S. 265 - 276.

ANDUS, T.; HEINRICH, P. C.; CASTELL, J. C. und GEROK, W. (1989):

Interleukin-6: Ein Schlüsselhormon der Akut Phase Reaktion.

Deutsche medizinische Wochenschrift, 114, 44, S. 1710 - 1716.

ARDEN, L. H.; DE GROOT, E.; SCHAAP, O. und LANDSDORP, P. M. (1987):

Production of hybridoma growth factors by human monocytes.

Eur. J. Immunol., 17, S. 1441 - 1446.

AUER, D. E.; NG, J. C.; THOMPSON, H. L.; INGLIS, S. und SEAWRIGHT, A. A. (1989):

Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury.

Vet. Rec., 124, 10, S. 235 - 239.

BAILEY, S. R.; ANDREWS, M. J.; ELLIOTT, J. und CUNNINGHAM, F. (2000):

Actions and interactions of ADP, 5-HT, histamine and PAF on equine platelets.

Res. Vet. Sci., 68, 2, S. 175 - 180.

BALLOU, S. P. und KUSHNER, I. (1992):

C-reactive protein and the acute phase response.

Adv. Intern. Med., 37, S. 313 - 336.

BARRETT, A. J. und STARKEY, P. M. (1973):

The interaction of α_2 -macroglobulin with proteinases. Characteristics and specificity of the reaction and a hypothesis concerning its molecular mechanism.

Biochem. J., 133, S. 709 - 724

BARTON, M. H. und COLLATOS, C. (1999):

Tumor necrosis factor and interleukin-6 activity and endotoxin concentration in peritoneal fluid and blood of horses with acute abdominal disease.

J. Vet. Intern. Med., 13, 5, S. 457 - 464.

BARTON, M. H. und MOORE, J. N. (1994):

Pentoxifylline inhibits mediator synthesis in an equine in vitro whole blood model of endotoxemia.

Circ. Shock., 44, 4, S. 216 - 220.

BARTON, M. H.; MOORE, J. N. und NORTON, N. (1997):

Effects of pentoxifylline infusion on response of horses to in vivo challenge exposure with endotoxin.

Am. J. Vet. Res., 58, 11, S. 1300 - 1307.

BASKETT, A.; BARTON, M. H.; NORTON, N.; ANDERS, B. und MOORE, J. N. (1997):

Effect of pentoxifylline, flunixin meglumine, and their combination on a model of endotoxemia in horses.

Am. J. Vet. Res., 58, 11, S. 1291 - 1299.

BAUMANN, H.; PROWSE, K. R.; MARINKOVIC, S.; WON, K. A. und JAHREIS, G. P. (1989):

Stimulation of hepatic acute phase response by cytokines and glucocorticoids.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 280 - 295.

BAUMANN, H.; PROWSE, K. R.; WON, K.-A.; MARINKOVIC, S. und JAHREIS, G. P. (1988):

Regulation of Acute Phase Protein Genes by Hepatocyte-Stimulating Factors, Monokines and Glucocorticoids.

Tokai. J. Exp. Clin. Med., 13, 6, S. 277 - 292.

BENBAREK, H.; DEBY-DUPONT, G.; CAUDRON, I.; GRULKE, S.; DEBY, C.; LAMY, M. und SERTEYN, D. (1998):

Interactions between lipopolysaccharides and blood factors on the stimulation of equine polymorphonuclear neutrophils.

Vet. Immunol. Immunopathol., 64, 4, S. 313 - 322.

BENDITT, E. P. und ERIKSEN, N. (1977):

Amyloid protein SAA is associated with high density lipoprotein from human serum.

Proc. Natl. Acad. Sci., 74, S. 4025 - 4028.

BERGER, D.; WINTER, M. und BEGER, H. G. (1990):

Influence of human transferrin and group-specific protein on endotoxicity in vitro.

Clinica Chimica Acta, 189, S. 1 - 6.

BERNER, R.; FURLL, B.; STELTER, F.; DROSE, J.; MULLER, H. P. und SCHUTT, C. (2002):

Elevated levels of lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in plasma in neonatal early-onset sepsis.

Clin. Diagn. Lab. Immunol., 9, 2, S. 440 - 445.

BERNER, R.; NIEMEYER, C. M.; LEITITIS, J. U.; FUNKE, A.; SCHWAB, C.; RAU, U.; RICHTER, K.; TAWFEEK, M. S.; CLAD, A. und BRANDIS, M. (1998):

Plasma levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor-alpha, interleukin (IL)-1beta, IL-6, IL-8, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in neonatal early onset sepsis.

Pediatr. Res., 44, 4, S. 469 - 477.

BILLINGHURST, R. C.; FRETZ, P. B. und GORDON, J. R. (1995):

Induction of intra-articular tumour necrosis factor during acute inflammatory responses in equine arthritis.

Equine Vet. J., 27, 3, S. 208 - 216.

BLAKE, G. J. und RIDKER, P. M. (2002):

Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction.

J. Intern. Med., 252, 4, S. 283 - 294.

BORNSTEIN, D. L. (1982):

Leukocytic Pyrogen: A Major Mediator of the Acute Phase Reaction.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 389, S. 323 - 337.

BRAILSFORD, S.; LUNEC, J.; WINYARD, P. und BLAKE, D. R. (1985):

A possible role for ferritin during inflammation.

Free Radic. Res. Commun., 1, 2, S. 101 - 109.

BRUGMANS, F.; VENNER, M.; MENZEL, D. und MISCHKE, R. (1998):

Determination of fibrinogen levels in the horse with the heat-precipitation methods of Schalm and Millar.

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr., 105, 2, S. 58 - 61.

BRUNKHORST, F. M.; AL-NAWAS, B.; KRUMMENAUER, F.; FORYCKI, Z. F. und SHAH, P. M. (2002):

Procalcitonin, C-reactive protein and APACHE II Score for risk evaluation in patients with severe pneumonia.

Clin. Microbiol. Infect., 8, S. 93 - 100.

BUDDECKE, E. (1994):

Kapitel: Hormone.

In: BUDDECKE, E.: Grundriß der Biochemie für Studierende der Medizin.
Walter de Gruyter, 9. Aufl.

BUENO, A. C.; SEAHORN, T. L.; CORNICK-SEAHORN, J.; HOROHV, D. W. und MOORE, R. M. (1999):

Plasma and urine nitric oxide concentrations in horses given below a low dose of endotoxin.

Am. J. Vet. Res., 60, 8, S. 969 - 976.

BURROWS, G. E. (1981):

Therapeutic effect of phenylbutazone on experimental acute Escherichia coli endotoxemia in ponies.

Am. J. Vet. Res., 42, 1, S. 94 - 99.

CAMPBELL, M. D.; BELLAMY, J. E. und SEARCY, G. P. (1981):

Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse.

Am. J. Vet. Res., 42, 1, S. 100 - 104.

CARGILE, J. L.; MACKAY, R. J.; DANKERT, J. R. und SKELLEY, L. (1995):

Effects of tumor necrosis factor blockade on interleukin 6, lactate, thromboxane, and prostacyclin responses in miniature horses given endotoxin.

Am. J. Vet. Res., 56, 11, S. 1445 - 1450.

CASTELL, J. V.; ANDUS, T.; KUNZ, D. und HEINRICH, P. C. (1989):

Interleukin-6. The major regulator of acute-phase protein synthesis in man and rat.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 87 - 99.

CHESTERS, P. M.; HUGHES, A. und EDINGTON, N. (2000):

Equid herpesvirus 1: platelets and alveolar macrophages are potential sources of activated TGF- β 1 in the horse.

Vet. Immunol. Immunopathol., 75, 1-2, S. 71 - 79.

CHILCOAT, C. D.; ROWLINGSON, K. A. und JONES, S. L. (2002):

The effects of cAMP modulation upon the adhesion and respiratory burst activity of immune complex-stimulated equine neutrophils.

Vet. Immunol. Immunopathol., 88, 1-2, S. 65 - 77.

CHIN, B. S.; BLANN, A. D.; GIBBS, C. R.; CHUNG, N. A.; CONWAY, D. G. und LIP, G. Y. (2003):

Prognostic value of interleukin-6, plasma viscosity, fibrinogen, von Willebrand factor, tissue factor and vascular endothelial growth factor levels in congestive heart failure.

Eur. J. Clin. Invest., 33, 11, S. 941 - 948.

CLAUSS, A. (1957):

Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens.

Acta Haematologica, 17, S. 237 - 246.

COHEN-DIX, P.; NOBLE, R. W. und REICHLIN, M. (1973):

Comparative binding studies of the hemoglobin-haptoglobin and the hemoglobin-antihemoglobin reactions.

Biochemistry, 12, 19, S. 3744 - 3751.

CONNER, J. G.; ECKERSALL, P. D.; FERGUSON, J. und DOUGLAS, T. A. (1988):

Acute phase response in the dog following surgical trauma.

Res. Vet. Sci., 45, 1, S. 107 - 110.

COOPER, E. H. (1988):

Acute Phase Reactant Proteins as Prognostic Indicators in Cancer.

Tokai. J. Exp. Clin. Med., 13, 6, S. 361 - 364.

DARGEL, R. (1995a):

Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie.

Ullstein Mosby GmbH & Co.KG, Berlin/Wiesbaden

DARGEL, R. (1995b):

Kapitel: Pathobiochemie der Entzündung.

In: DARGEL, R.: Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie.

Ullstein Mosby GmbH & Co.KG, Berlin/Wiesbaden

DARGEL, R.; SIBELIUS, U.; MAYER, K.; GRIMMINGER, F.; SUTTORP, N.; BHAKDI, S.; SEEGER, W.; RIETSCHER, E. T.; KRELL, H.; TILL, U.; HEINRICH, P. C.; GRAEVE, L.; WIEDERANDERS, B.; DE GROOT, H.; IOANNIDIS, I.; RAUEN, U.; STELZNER, A.; HATZELMANN, A.; ULLRICH, V. und JÄGER, L. (1995):

Kapitel: Ätiopathogenese der Entzündung.

In: DARGEL, R.: Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie.

Ullstein Mosby GmbH & Co.KG, Berlin/Wiesbaden

DE KLEIJN, D. P.; SMEETS, M. B.; KEMMEREN, P. P.; LIM, S. K.; VAN MIDDELAAR, B. J.; VELEMA, E.; SCHONEVELD, A.; PASTERKAMP, G. und BORST, C. (2002):

Acute-phase protein haptoglobin is a cell migration factor involved in arterial restructuring.

FASEB J., 16, 9, S. 1123 - 1125.

DEIGNAN, T.; ALWAN, A.; KELLY, J.; MCNAIR, J.; WARREN, T. und O'FARRELLY, C. (2000):

Serum haptoglobin: an objective indicator of experimentally-induced Salmonella infection in calves.

Res. Vet. Sci., 69, 2, S. 153 - 158.

DINARELLO, C. A. (1994):

The Interleukin-1 family: 10 years of discovery.

FASEB J., 8, S. 1314 - 1325.

DOBRYSZYCKA, W. und KRAWCZYK, E. (1979):

Microheterogeneity of mammalian haptoglobins in isoelectric focusing.

Comp. Biochem. Physiol. B, 62, 1, S. 111 - 113.

DUBIN, A.; POTEMPA, J. und SILBERRING, J. (1984):

Alpha 2-macroglobulin from horse plasma. Purification, properties and interaction with certain serine proteinases.

Biochem. Int., 8, 4, S. 589 - 596.

ECKERSALL, P. D. und CONNER, J. G. (1988):

Bovine and canine acute phase proteins.

Vet. Res. Commun., 12, 2-3, S. 169 - 178.

ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; MCCOMB, C.; HOGARTH, C. J.; SAFI, S.; WEBER, A.; MCDONALD, T.; NOLAN, A. M. und FITZPATRICK, J. L. (2001):

Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis.

Vet. Rec., 148, 2, S. 35 - 41.

EHLERS, R.; USTINOV, V.; CHEN, Z.; ZHANG, X.; RAO, R.; LUSCINSKAS, F. W.; LOPEZ, J.; PLOW, E. und SIMON, D. I. (2003):

Targeting platelet-leukocyte interactions: identification of the integrin Mac-1 binding site for the platelet counter receptor glycoprotein Iba.

J. Exp. Med., 198, 7, S. 1077 - 1088.

ERIKSSON, S. G.; CARLSON, J. A. und LINDMARK, B. E. (1988):

Serin Proteinase Inhibitors as Acute Phase Reactants in Liver Disease.

Tokai. J. Exp. Clin. Med., 13, 6, S. 365 - 371.

EURELL, T. E.; WILSON, D. A. und BAKER, G. J. (1993):

The effect of exploratory laparotomy on the serum and peritoneal haptoglobin concentrations of the pony.

Can. J. Vet. Res., 57, 1, S. 42 - 44.

FAGLIARI, J. J.; MCCLENAHAN, D.; EVANSON, O. A. und WEISS, D. J. (1998):

Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis.

Am. J. Vet. Res., 59, 10, S. 1234 - 1237.

- FEIGE, K.; KASTNER, S. B.; DEMPFE, C. E. und BALESTRA, E. (2003):
Changes in coagulation and markers of fibrinolysis in horses undergoing colic surgery.
J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med., 50, 1, S. 30 - 36.
- FLICK, M. J.; DU, X.; WITTE, D. P.; JIROUSKOVA, M.; SOLOVIEV, D. A.; BUSUTTIL, S. J.; PLOW, E. F. und DEGEN, J. L. (2004):
Leukocyte engagement of fibrin(ogen) via the integrin receptor α 5 β 1 is critical for host inflammatory response in vivo.
J. Clin. Invest., 113, 11, S. 1596 - 1606.
- FRANZ, A. R.; KRON, M.; POHLANDT, F. und STEINBACH, G. (1999a):
Comparison of procalcitonin with interleukin 8, C-reactive protein and differential white blood cell count for the early diagnosis of bacterial infections in newborn infants.
Pediatr. Infect. Dis. J., 18, 8, S. 666 - 671.
- FRANZ, A. R.; STEINBACH, G.; KRON, M. und POHLANDT, F. (1999b):
Reduction of unnecessary antibiotic therapy in newborn infants using interleukin-8 and C-reactive protein as markers of bacterial infections.
Pediatrics, 104, 3, S. 447 - 453.
- FULLER, G. M. und GRENETT, H. E. (1989):
The structure and function of the mouse hepatocyte stimulating factor.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 31 - 44.
- FULLER, G. M. und RITCHIE, D. G. (1982):
A regulatory pathway for fibrinogen biosynthesis involving an indirect feedback loop.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 389, S. 308 - 322.
- GANGUR, V.; BIRMINGHAM, N. P. und THANESVORAKUL, S. (2002):
Chemokines in health and disease.
Vet. Immunol. Immunopathol., 86, 3-4, S. 127 - 136.

GAULDIE, J.; RICHARDS, C.; NORTHEMANN, W.; FEY, G. und BAUMANN, H. (1989):

IFN beta 2/BSF2/IL-6 is the monocyte-derived HSF that regulates receptor-specific acute phase gene regulation in hepatocytes.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 46 - 58.

GENTRY, P. A.; FELDMAN, B. F.; O'NEILL, S. L.; MADIGAN, J. E. und ZINKL, J. G. (1992):

Evaluation of the haemostatic profile in the pre- and post parturient mare, with particular focus on the perinatal period.

Equine Vet. J., 24, 1, S. 33 - 36.

GIGUERE, S. und PRESCOTT, J. F. (2000):

Equine immunity to bacteria.

Vet. Clin. North Am. Equine Pract., 16, 1, S. 29 - iv.

GOLDSTEIN, I. M.; KAPLAN, H. B.; EDELSON, H. S. und WEISSMAN, G. (1982):

Ceruloplasmin: An Acute Phase Reactant that Scavenges Oxygen-Derived Free Radicals.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 389, S. 368 - 378.

GOTSCHLICH, E. C. (1989):

C-reactive protein. A historical overview.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 9 - 18.

GRAVERSEN, J. H.; MADSEN, M. und MOESTRUP, S. K. (2002):

CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma.

Int. J. Biochem. Cell Biol., 34, 4, S. 309 - 314.

GRIMMINGER, F.; MAYER, K. und SEEGER, W. (1997):

Is there a reliable immunotherapy in infection?

Internist, 38, 6, S. 541 - 552.

GURLEYIK, G.; GURLEYIK, E.; CETINKAYA, F. und UNALMISER, S. (2002):
Serum interleukin-6 measurement in the diagnosis of acute appendicitis.
ANZ. J. Surg., 72, 9, S. 665 - 667.

GUTMANN, S.; ZAWATZKY, R. und MULLER, M. (2005):
Characterisation and quantification of equine interferon gamma.
Vet. Immunol. Immunopathol., 104, 1-2, S. 105 - 115.

HARDING, J. C.; BAARSCH, M. J. und MURTAUGH, M. P. (1997):
Association of tumour necrosis factor and acute phase reactant changes with post
arrival disease in swine.
Zentralbl. Veterinärmed., 44, 7, S. 405 - 413.

HARRISON, P. M. und AROSIO, P. (1996):
The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation.
Biochimica et Biophysica Acta, 1275, S. 161 - 203.

HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; KIVIPELTO, J. und BAUER, J.
E. (1984):
Haematology of foals up to one year old.
Equine Vet. J., 16, 4, S. 347 - 353.

HAWKINS, D. L.; CARGILE, J. L.; MACKAY, R. J.; BROOME, T. A. und SKELLEY,
L. A. (1995):
Effect of tumor necrosis factor antibody on synovial fluid cytokine activities in equine
antebrachiocarpal joints injected with endotoxin.
Am. J. Vet. Res., 56, 10, S. 1292 - 1299.

HAWKINS, D. L.; MACKAY, R. J.; GUM, G. G.; COLAHAN, P. T. und MEYER, J. C.
(1993):
Effects of intra-articularly administered endotoxin on clinical signs of disease and
synovial fluid tumor necrosis factor, interleukin 6, and prostaglandin E2 values in
horses.
Am. J. Vet. Res., 54, 3, S. 379 - 386.

- HAWKINS, D. L.; MACKAY, R. J.; MACKAY, S. L. und MOLDAWER, L. L. (1998):
Human interleukin 10 suppresses production of inflammatory mediators by LPS-stimulated equine peritoneal macrophages.
Vet. Immunol. Immunopathol., 66, 1, S. 1 - 10.
- HEDGES, J. F.; DEMAULA, C. D.; MOORE, B. D.; MCLAUGHLIN, B. E.; SIMON, S. I. und MACLACHLAN, N. J. (2001):
Characterization of equine E-selectin.
Immunology, 103, 4, S. 498 - 504.
- HEEGAARD, P. M.; GODSON, D. L.; TOUSSAINT, M. J.; TOORNEHOOJ, K.; LARSEN, L. E.; VIUFF, B. und ROONSHOLT, L. (2000):
The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus.
Vet. Immunol. Immunopathol., 77, 1-2, S. 151 - 159.
- HEEGAARD, P. M.; KLAUSEN, J.; NIELSEN, J. P.; GONZALEZ-RAMON, N.; PINEIRO, M.; LAMPREAVE, F. und ALAVA, M. A. (1998):
The porcine acute phase response to infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Haptoglobin, C-reactive protein, major acute phase protein and serum amyloid A protein are sensitive indicators of infection.
Comp Biochem. Physiol B Biochem. Mol. Biol., 119, 2, S. 365 - 373.
- HEINRICH, P. C.; CASTELL, J. V. und ANDUS, T. (1990):
Interleukin-6 and the acute phase response.
Biochem. J., 265, S. 621 - 636.
- HIGGINS, A. J. und LEES, P. (1984):
The acute inflammatory process, arachidonic acid metabolism and the mode of action of anti-inflammatory drugs.
Equine Vet. J., 16, 3, S. 163 - 175.
- HILDEBRANDT, H. (1994):
Pschyrembel: Medizinisches Wörterbuch.
Walter de Gruyter, Berlin

HIRVONEN, J.; HUSZENICZA, G.; KULCSAR, M. und PYORALA, S. (1999):

Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis.

Theriogenology, 51, 6, S. 1071 - 1083.

HOEGEE-DE NOBEL, E.; VOSKUILEN, M.; BRIET, E.; BROMMER, E. J. und NIEUWENHUIZEN, W. (1988):

A monoclonal antibody-based quantitative enzyme immunoassay for the determination of plasma fibrinogen concentrations.

Thromb. Haemost., 60, 3, S. 415 - 418.

HORADAGODA, N. U.; KNOX, K. M.; GIBBS, H. A.; REID, S. W.; HORADAGODA, A.; EDWARDS, S. E. und ECKERSALL, P. D. (1999):

Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation.

Vet. Rec., 144, 16, S. 437 - 441.

HULTEN, C. und DEMMERS, S. (2002):

Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen.

Equine Vet. J., 34, 7, S. 693 - 698.

HULTEN, C.; GRONLUND, U.; HIRVONEN, J.; TULAMO, R. M.; SUOMINEN, M. M.; MARHAUG, G. und FORSBERG, M. (2002):

Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and α_2 -globulins during induced noninfectious arthritis in the horse.

Equine Vet. J., 34, 7, S. 699 - 704.

HULTEN, C.; SANDGREN, B.; SKIOLDEBRAND, E.; KLINGEBORN, B.; MARHAUG, G. und FORSBERG, M. (1999a):

The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as an inflammatory marker in equine influenza virus infection.

Acta Vet. Scand., 40, 4, S. 323 - 333.

HULTEN, C.; SLETTEN, K.; FOYN, B. C. und MARHAUG, G. (1997):

The acute phase serum amyloid A protein (SAA) in the horse: isolation and characterization of three isoforms.

Vet. Immunol. Immunopathol., 57, 3-4, S. 215 - 227.

HULTEN, C.; TULAMO, R. M.; SUOMINEN, M. M.; BURVALL, K.; MARHAUG, G. und FORSBERG, M. (1999b):

A non-competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) - a clinically useful inflammatory marker in the horse.

Vet. Immunol. Immunopathol., 68, 2-4, S. 267 - 281.

HUSEBEKK, A.; HUSBY, G.; SLETTEN, K.; MARHAUG, G. und NORDSTOGA, K. (1986):

Characterization of amyloid protein AA and its serum precursor SAA in the horse.

Scand. J. Immunol., 23, 6, S. 703 - 709.

HVILSOM, G. B.; THORSEN, P.; JEUNE, B. und BAKKETEIG, L. S. (2002):

C-reactive protein: a serological marker for preterm delivery?

Acta Obstet. Gynecol. Scand., 81, 5, S. 424 - 429.

IBELGAUFTS, H. (1995):

Dictionary of cytokines.

VCH Verlag, Weinheim

JACOBSEN, S.; JENSEN, J. C.; FREI, S.; JENSEN, A. L. und THOEFNER, M. B. (2005a):

Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: a field study.

Equine Vet. J., 37, 6, S. 552 - 556.

JACOBSEN, S.; KJELGAARD-HANSEN, M.; HAGBARD, P. H. und JENSEN, A. L. (2005b):

Evaluation of a commercially available human serum amyloid A (SAA) turbidometric immunoassay for determination of equine SAA concentrations.

Vet. J., In Press

JACOBSEN, S.; NIEWOLD, T. A.; HALLING-THOMSEN, M.; NANNI, S.; OLSEN, E.; LINDEGAARD, C. und ANDERSEN, P. H. (2006):

Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis.

Vet. Immunol. Immunopathol., 110, 3-4, S. 325-330

JAIN, N. C. (1986a):

Kapitel: Clinical Interpretation of Changes in Leucocyte Numbers and Morphology.

In: JAIN, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology.

Lea & Febiger, 4. Aufl., Philadelphia (USA)

JAIN, N. C. (1986b):

Kapitel: Hematologic Techniques.

In: JAIN, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology.

Lea & Febiger, 4. Aufl., Philadelphia (USA)

JAIN, N. C. (1986c):

Kapitel: Megakaryopoiesis and Platelet Production, Survival, and Distribution.

In: JAIN, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology.

Lea & Febiger, 4. Aufl., Philadelphia (USA)

JAIN, N. C. (1986d):

Kapitel: The Horse: Normal Hematology with Comments on Response to Disease.

In: JAIN, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology.

Lea & Febiger, 4. Aufl., Philadelphia (USA)

JAYLE, M. F. und BOUSSIER, G. (1954):

Isolation in pure state of serum haptoglobin, mucoprotein α_2 : properties and clinical significance.

Presse Med., 62, 85, S. 1752 - 1753.

JENSEN, L. E. und WHITEHEAD, A. S. (1998):

Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response.

Biochem. J., 334, S. 489 - 503.

JOHNSON, P.; DAWSON, A. M. und MOULD, D. L. (1983):

Serum protein changes in grass sickness.

Res. Vet. Sci., 35, 2, S. 165 - 170.

JONES, S. L. und BLIKSLAGER, A. (2001):

The future of antiinflammatory therapy.

Vet. Clin. North Am. Equine Pract., 17, 2, S. 245 - 62, vi.

JONES, S. L.; SHARIEF, Y. und CHILCOAT, C. D. (2001):

Signaling mechanism for equine neutrophil activation by immune complexes.

Vet. Immunol. Immunopathol., 82, 1-2, S. 87 - 100.

KAPLAN, A. P.; SILVERBERG, M.; DUNN, J. T. und GHEBREHIWET, B. (1982):

Interaction of the clotting, kinin-forming, complement, and fibrinolytic pathways in inflammation.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 389, S. 25 - 38.

KAPLAN, M. H. (1982):

C-Reactive Protein: Relation to Disease and Pathological Significance.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 398, S. 419 - 421.

KATNIK, I.; PUPEK, M. und STEFANIAK, T. (1998):

Cross reactivities among some mammalian haptoglobins studied by a monoclonal antibody.

Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol., 119, 2, S. 335 - 340.

KATO, H.; OHASHI, T.; MATSUSHIRO, H.; WATARI, T.; GOITSUKA, R.; TSUJIMOTO, H. und HASEGAWA, A. (1997):

Molecular cloning and functional expression of equine interleukin-1 receptor antagonist.

Vet. Immunol. Immunopathol., 56, 3-4, S. 221 - 231.

KENT, J. E. (1987):

Specific serum protein changes associated with primary and secondary *Strongylus vulgaris* infections in pony yearlings.

Equine Vet. J., 19, 2, S. 133 - 137.

KENT, J. E. und GOODALL, J. (1991):

Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentrations.

Equine Vet. J., 23, 1, S. 59 - 66.

KERR, R.; STIRLING, D. und LUDLAM, C. A. (2001):

Interleukin 6 and haemostasis.

Br. J. Haematol., 115, 1, S. 3 - 12.

KIRKER-HEAD, C. A.; CHANDNA, V. K.; AGARWAL, R. K.; MORRIS, E. A.; TIDWELL, A.; O'CALLAGHAN, M. W.; RAND, W. und KUMAR, M. S. (2000):

Concentrations of substance P and prostaglandin E2 in synovial fluid of normal and abnormal joints of horses.

Am. J. Vet. Res., 61, 6, S. 714 - 718.

KITAGAWA, S. und SAITO, M. (1988):

Biological Activities of Interleukins and Colony-Stimulating Factors.

Tokai. J. Exp. Clin. Med., 13, 6, S. 307 - 311.

KOJ, A. (1989):

The role of interleukin-6 as the hepatocyte stimulating factor in the network of inflammatory cytokines.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 1 - 8.

KOJ, A.; MAGIELSKA-ZERO, D.; BERETA, J.; KURDOWSKA, A.; ROKITA, H. und GAULDIE, J. (1988):

The Cascade of Inflammatory Cytokines Regulating Synthesis of Acute Phase Proteins.

Tokai. J. Exp. Clin. Med., 13, 6, S. 255 - 264.

KOO, P. H. (1983):

Tumor inhibition by human α_2 -macroglobulin.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 421, S. 388 - 390.

KORINEK, J. (1963):

Serum proteins with an affinity for haemoglobin. I. Immunoelectrophoretic analysis of proteins with an affinity for haemoglobin.

Folia Biol. (Praha), 9, S. 60 - 67.

KRAFT, W.; DÜRR, U. M. (2005):

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.

Schattauer, Stuttgart

KRAWCZYK, E. und DOBRYSZYCKA, W. (1980):

Properties of the interspecies hybrids between haptoglobin alpha and beta subunits.

Acta Biochim. Pol., 27, 3-4, S. 335 - 343.

KRUEGER, M.; NAUCK, M. S.; SANG, S.; HENTSCHEL, R.; WIELAND, H. und BERNER, R. (2001):

Cord blood levels of interleukin-6 and interleukin-8 for the immediate diagnosis of early-onset infection in premature infants.

Biol. Neonate, 80, 2, S. 118 - 123.

KUNZ, D. und KOHSE, K. P. (2002):

Entzündungsdiagnostik in der Pädiatrie.

J. Lab. Med., 26, 5/6, S. 335 - 340.

KUSHNER, I. (1982):

The phenomenon of the acute phase response.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 389, S. 39 - 48.

KUSHNER, I.; GANAPATHI, M. und SCHULTZ, D. (1989):

The acute phase response is mediated by heterogeneous mechanisms.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 19 - 29.

KÜSTER, H.; WEISS, M.; WILLEITNER, A. E.; DETLEFSEN, S.; JEREMIAS, I.; ZBOJAN, J.; GEIGER, R.; LIPOWSKY, G. und SIMBRUNER, G. (1998):

Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation.

The Lancet, 352, S. 1271 - 1277.

LAWRENCE, T.; WILLOUGHBY, D. A. und GILROY, D. W. (2002):

Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation.

Nat. Rev. Immunol., 2, 10, S. 787 - 795.

LEE, F.; CHIU, C. P.; WIDEMAN, J.; HODGKIN, P.; HUDAK, S.; TROUTT, L.; NG, T.; MOULDS, C.; COFFMAN, R.; ZLOTNIK, A. und . (1989):

Interleukin-6. A multifunctional regulator of growth and differentiation.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 215 - 28, discussion.

LEWIS, E. J.; BISHOP, J. und ASPINALL, S. J. (1998):

A simple inflammation model that distinguishes between the actions of anti-inflammatory and anti-rheumatic drugs.

Inflamm. Res., 47, 1, S. 26 - 35.

LIM, S. K. (2001):

Consequences in haemolysis without haptoglobin.

Redox. Rep., 6, 6, S. 375 - 378.

LIPPERHEIDE, C.; DIEPERS, N.; LAMPREAVE, F.; ALAVA, M. und PETERSEN, B. (1998):

Nephelometric determination of haptoglobin plasma concentrations in fattening pigs.

Zentralbl. Veterinärmed. A, 45, 9, S. 543 - 550.

LIUZZO, G.; BIASUCCI, L. M.; GALLIMORE, J. R.; GRILLO, R. L.; REBUZZI, A. G.; PEPYS, M. B. und MASERI, A. (1994):

The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina.

N. Engl. J. Med., 331, 7, S. 417 - 424.

LÖFFLER, G.; PETRIDES, P. E. (1998):
Biochemie und Pathobiochemie.
Springer-Verlag, Berlin

MA, Z.; MIZUKOSHI, T.; KHATLANI, T. S.; OKUDA, M. und ONISHI, T. (2000):
Molecular cloning and sequencing of equine cDNA encoding serum amyloid A (SAA).
Vet. Immunol. Immunopathol., 77, 3-4, S. 321 - 327.

MACKAY, R. J. (2000):
Inflammation in horses.
Vet. Clin. North Am. Equine Pract., 16, 1, S. 15 - 27, v.

MACKAY, R. J. und LESTER, G. D. (1992):
Induction of the acute-phase cytokine, hepatocyte-stimulating factor/interleukin 6, in
the circulation of horses treated with endotoxin.
Am. J. Vet. Res., 53, 8, S. 1285 - 1289.

MACKAY, R. J.; MERRITT, A. M.; ZERTUCHE, J.-M.; WHITTINGTON, B. S. und
SKELLEY, L. A. (1991):
Tumor necrosis factor activity in the circulation of horses given endotoxin.
Am. J. Vet. Res., 52, 4, S. 533 - 538.

MADSEN, M.; GRAVERSEN, J. H. und MOESTRUP, S. K. (2001):
Haptoglobin and CD163: captor and receptor gating hemoglobin to macrophage
lysosomes.
Redox. Rep., 6, 6, S. 386 - 388.

MAGNUSSON, U.; WILKIE, B.; ARTURSSON, K. und MALLARD, B. (1999):
Interferon-alpha and haptoglobin in pigs selectively bred for high and low immune
response and infected with Mycoplasma hyorhinis.
Vet. Immunol. Immunopathol., 68, 2-4, S. 131 - 137.

MANGIN, P.; OHLMANN, P.; ECKLY, A.; CAZENAVE, J. P.; LANZA, F. und GACHET, C. (2004):

The P2Y1 receptor plays an essential role in the platelet shape change induced by collagen when TxA2 formation is prevented.

J. Thromb. Haemost., 2, 6, S. 969 - 977.

MASSOCO, C. und PALERMO-NETO, J. (2003):

Effects of midazolam on equine innate immune response: a flow cytometric study.

Vet. Immunol. Immunopathol., 95, 1-2, S. 11 - 19.

MAY, S. A.; HOOKE, R. E. und LEES, P. (1991):

Late-stage mediators of the inflammatory response: identification of interleukin-1 and a casein-degrading enzyme in equine acute inflammatory exudates.

Res. Vet. Sci., 50, 1, S. 14 - 17.

MCCARTY, O. J.; ZHAO, Y.; ANDREW, N.; MACHESKY, L. M.; STAUNTON, D.; FRAMPTON, J. und WATSON, S. P. (2004):

Evaluation of the role of platelet integrins in fibronectin-dependent spreading and adhesion.

J. Thromb. Haemost., 2, 10, S. 1823 - 1833.

MCGUIRE, T. C. und HENSON, J. B. (1969):

The detection of intravascular haemolysis in the horse.

Br. Vet. J., 125, 1, S. v - vi.

MEAGER, A. und DAS, R. E. (1994):

International collaborative study of the candidate international standards for human tumour necrosis factors alpha (hTNF-alpha) and beta (hTNF-beta) and for murine tumour necrosis factor alpha (mTNF-alpha).

J. Immunol. Methods, 170, 1, S. 1 - 13.

MILLAR, H. R.; SIMPSON, J. G. und STALKER, A. L. (1971):

An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation.

J. Clin. Pathol., 24, 9, S. 827 - 830.

- MILLS, P. C.; AUER, D. E.; KRAMER, H.; BARRY, D. und NG, J. C. (1998):
Effects of inflammation-associated acute-phase response on hepatic and renal indices in the horse.
Aust. Vet. J., 76, 3, S. 187 - 194.
- MILLS, P. C.; NG, J. C.; KRAMER, H. und AUER, D. E. (1997):
Stress response to chronic inflammation in the horse.
Equine Vet. J., 29, 6, S. 483 - 486.
- MILNE, E. M.; DOXEY, D. L.; KENT, J. E. und PEMBERTON, A. (1991):
Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia).
Res. Vet. Sci., 50, 3, S. 273 - 278.
- MISCHKE, R.; MENZEL, D. und WOLLING, H. (2000):
Comparison of different methods to measure fibrinogen concentration in canine plasma with respect to their sensitivity towards the fibrinogen degradation products X, Y and D.
Haemostasis, 30, 3, S. 131 - 138.
- MOLD, C.; DU CLOS, T. W.; NAKAYAMA, S.; EDWARDS, K. M. und GEWURZ, H. (1982):
C-reactive protein reactivity with complement and effects on phagocytosis.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 389, S. 251 - 262.
- MOLTER, G. P.; SOLTESZ, S.; KOTTKE, R.; WILHELM, W.; BIEDLER, A. und SILOMON, M. (2003):
Procalcitonin plasma concentrations and systemic inflammatory response following different types of surgery.
Anaesthesist, 52, 3, S. 210 - 217.
- MOORE, R. M.; MUIR, W. W.; CAWRSE, M.; BERTONE, A. L. und BEARD, W. L. (1995):
Systemic and colonic venous plasma eicosanoid and endotoxin concentrations, and colonic venous serum tumor necrosis factor and interleukin-6 activities in horses during low-flow ischemia and reperfusion of the large colon.
Am. J. Vet. Res., 56, 5, S. 656 - 663.

MORITZ, A. (2000):

Der Einsatz lasergesteuerter Multiparameter-Hämatologiesystem in der Veterinärmedizin.

Habilitationsschrift

MORITZ, A.; WALCHECK, B. K. und WEISS, D. J. (2003):

Flow cytometric detection of activated platelets in the dog.

Vet. Clin. Pathol., 32, 1, S. 6 - 12.

MORITZ, A.; WALCHECK, B. K. und WEISS, D. J. (2005):

Evaluation of flow cytometric and automated methods for detection of activated platelets in dogs with inflammatory disease.

Am. J. Vet. Res., 66, 2, S. 325 - 329.

MORRIS, D. D. (1991):

Endotoxemia in horses. A review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis.

J. Vet. Intern. Med., 5, 3, S. 167 - 181.

MORRIS, D. D.; CROWE, N. und MOORE, J. N. (1990):

Correlation of clinical and laboratory data with serum tumor necrosis factor activity in horses with experimentally induced endotoxemia.

Am. J. Vet. Res., 51, 12, S. 1935 - 1940.

MORRIS, D. D.; CROWE, N.; MOORE, J. N. und MOLDAWER, L. L. (1992a):

Endotoxin-induced production of interleukin 6 by equine peritoneal macrophages in vitro.

Am. J. Vet. Res., 53, 8, S. 1298 - 1301.

MORRIS, D. D.; MESSICK, J.; WHITLOCK, R. H.; PALMER, J.; WARD, M. V. und FELDMAN, B. F. (1988a):

Effect of equine ehrlichial colitis on the hemostatic system in ponies.

Am. J. Vet. Res., 49, 7, S. 1030 - 1036.

MORRIS, D. D.; MESSICK, J.; WHITLOCK, R. H.; PALMER, J.; WARD, M. V. und FELDMAN, B. F. (1988b):

Effect of equine ehrlichial colitis on the hemostatic system in ponies.

Am. J. Vet. Res., 49, 7, S. 1030 - 1036.

MORRIS, D. D.; MOORE, J. N.; CROWE, N. und FISCHER, J. K. (1991):

Dexamethasone reduces endotoxin-induced tumor necrosis factor activity production in vitro by equine peritoneal macrophages.

Cornell Vet., 81, 3, S. 267 - 276.

MORRIS, D. D.; MOORE, J. N.; CROWE, N. und MOLDAWER, L. L. (1992b):

Effect of experimentally induced endotoxemia on serum interleukin-6 activity in horses.

Am. J. Vet. Res., 53, 5, S. 753 - 756.

MOSMAN, T. (1983):

Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.

J. Immunol. Methods, 65, S. 55 - 63.

MURATA, H.; SHIMADA, N. und YOSHIOKA, M. (2004):

Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview.

Vet. J., 168, 1, S. 28 - 40.

NAKAGAWA, H.; YAMAMOTO, O.; OIKAWA, S.; HIGUCHI, H.; WATANABE, A. und KATOH, N. (1997):

Detection of serum haptoglobin by enzyme-linked immunosorbent assay in cows with fatty liver.

Res. Vet. Sci., 62, 2, S. 137 - 141.

NEUMANN, S.; SCHADE, F. U.; FRANKE, C.; SCHLEGEL, J.; WOLTER, D. und RIETSCHEL, E. T. (1995):

Kapitel: Systemische Reaktionen.

In: DARGEL, R.: Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie.

Ullstein Mosby GmbH & Co.KG, Berlin/Wiesbaden

NGUYEN, M. T. und SIMPSON-HAIDARIS, P. J. (2000):

Cell Type-Specific Regulation of Fibrinogen Expression in Lung Epithelial Cells by Dexamethasone and Interleukin-1 β .

Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., 22, S. 209 - 217.

NUNOKAWA, Y.; FUJINAGA, T.; TAIRA, T.; OKUMURA, M.; YAMASHITA, K.; TSUNODA, N. und HAGIO, M. (1993):

Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-phase reactive protein in horses.

J. Vet. Med. Sci., 55, 6, S. 1011 - 1016.

OKUBO, H.; MIYANAGA, O.; NAGANO, M.; ISHIBASHI, H.; KUDO, J.; IKUTA, T. und SHIBATA, K. (1981):

Purification and immunological determination of α_2 -macroglobulin in serum from injured rats.

Biochimica et Biophysica Acta, 668, S. 257 - 267.

OKUMURA, M.; FUJINAGA, T.; YAMASHITA, K.; TSUNODA, N. und MIZUNO, S. (1991):

Isolation, characterization, and quantitative analysis of ceruloplasmin from horse.

Am. J. Vet. Res., 52, 12, S. 1979 - 1985.

ORINO, K.; YAMAMOTO, S. und WATANABE, K. (1993):

Fibrinogen as a ferritin-binding protein in horse plasma.

J. Vet. Med. Sci., 55, 5, S. 785 - 787.

OWEN, J. A.; BETTER, F. C. und HOBAN, J. (1960):

A simple method for the determination of serum haptoglobins.

J. Clin. Pathol., 13, S. 163 - 164.

PATTERSON, S. D.; AUER, D. und BELL, K. (1988):

Acute phase response in the horse: plasma protein changes associated with adjuvant induced inflammation.

Biochem. Int., 17, 2, S. 257 - 264.

PELLEGRINI, A.; ZWEIFEL, H. R. und VON FELLEBERG, R. (1983):
Isolation and characterization of horse α_2 -macroglobulin protease inhibitor.
Int. J. Biochem., 15, 8, S. 1003 - 1011.

PENHALLOW, R. C.; MASON, A. B. und WOODWORTH, R. C. (1991):
Electrophoretic characterization of human, equine and bovine transferrins.
Comp. Biochem. Physiol. B, 98, 1, S. 41 - 45.

PEPYS, M. B.; BALTZ, M. L.; TENNENT, G. A.; KENT, J.; OUSEY, J. und
ROSSDALE, P. D. (1989):
Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase
response.
Equine Vet. J., 21, 2, S. 106 - 109.

PERLMUTTER, D. H. (1993):
Kapitel: α_1 -Antitrypsin : Struktur, Function, Physiology.
In: MACKIEWICZ, A., KUSHNER, I. und BAUMANN, H.: Acute phase proteins:
molecular biology, biochemistry, and clinical applications.
CRC Press, Inc., Boca Raton (USA)

POLLOCK, P. J.; PRENDERGAST, M.; SCHUMACHER, J. und BELLENGER, C. R.
(2005):
Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased
horses.
Vet. Rec., 156, 17, S. 538 - 542.

PRITCHETT, T. J. und PAULSON, J. C. (1989):
Basis for the Potent Inhibition of Influenza Virus Infection by Equine and Guinea Pig
 α_2 -macroglobulin.
Vet. Immunol. Immunopathol., 264, 17, S. 9850 - 9858.

RATNOFF, O. D. und MENZIE, C. (1951):
A new method for the determination of fibrinogen in small samples of plasma.
J. Lab. Clin. Med., 37, 2, S. 316 - 320.

REILLY, C. A. und AUST, S. D. (1997):

Stimulation of the Ferroxidase Activity of Ceruloplasmin during Iron Loading into Ferritin.

Archives of Biochemistry and Biophysics, 347, S. 242 - 248.

REILLY, C. A.; SORLIE, M. und AUST, S. D. (1998):

Evidence for a Protein-Protein Complex during Iron Loading into Ferritin by Ceruloplasmin.

Archives of Biochemistry and Biophysics, 354, S. 165 - 171.

RICHTER, H. und WAGNER, D. (1974):

Haptoglobin in domestic mammals. II. Quantitative haptoglobin determination in blood serum and plasma by various methods.

Arch. Exp. Veterinärmed., 28, 4, S. 491 - 503.

RICKARDS, K. J.; PAGE, C. P.; LEES, P. und CUNNINGHAM, F. M. (2001):

Differential inhibition of equine neutrophil function by phosphodiesterase inhibitors.

J. Vet. Pharmacol. Ther., 24, 4, S. 275 - 281.

RICKARDS, K. J.; PAGE, C. P.; LEES, P.; GETTINBY, G. und CUNNINGHAM, F. M. (2003):

In vitro and ex vivo effects of the phosphodiesterase 4 inhibitor, rolipram, on thromboxane production in equine blood.

J. Vet. Pharmacol. Ther., 26, 2, S. 123 - 130.

ROBINSON, J. A.; ALLEN, G. K.; GREEN, E. M.; GARNER, H. E.; LOCH, W. E. und WALSH, D. M. (1993):

Serum interleukin-6 concentrations in endotoxin-infused neonatal foals.

Am. J. Vet. Res., 54, 9, S. 1411 - 1414.

ROSCHER, K. (2000):

Vergleich ausgewählter Blutparameter zur Eignung in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen beim Pferd.

Dissertationsschrift

ROSSBACHER, J.; WAGNER, L. und PASTERNAK, M. S. (1999):

Inhibitory effect of haptoglobin on granulocyte chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity.

Scand. J. Immunol., 50, 4, S. 399 - 404.

ROTHENBURGER, M.; MARKEWITZ, A.; LENZ, T.; KAULBACH, H.-G.; MAROHL, K.; KUHLMANN, W.-D. und WEINHOLD, C. (1999):

Detection of Acute Phase Response and Infection. The Role of Procalcitonin and C-Reactive Protein.

Clin. Chem. Lab. Med., 37, 3, S. 275 - 279.

RUMMEL, C. (2005):

Charakterisierung der Bedeutung von Interleukin-6 und Prostaglandinen bei der Fieberentstehung nach systemischer oder lokaler Stimulation mit bakteriellem Lipopolysaccharid bei Meerschweinchen.

Dissertationsschrift

SAINI, P. K.; RIAZ, M.; WEBERT, D. W.; ECKERSALL, P. D.; YOUNG, C. R.; STANKER, L. H.; CHAKRABARTI, E. und JUDKINS, J. C. (1998):

Development of a simple enzyme immunoassay for blood haptoglobin concentration in cattle and its application in improving food safety.

Am. J. Vet. Res., 59, 9, S. 1101 - 1107.

SALVESEN, G. und ENGHILD, J. J. (1993):

Kapitel: Proteinase Inhibitors: an overview of their structure and possible function in the acute phase.

In: MACKIEWICZ, A., KUSHNER, I. und BAUMANN, H.: Acute Phase Proteins: Molecular Biology, Biochemistry, and Clinical Applications.

CRC Press, Inc., Boca Raton (USA)

SALVESEN, G.; VIRCA, G. D. und TRAVIS, J. (1983):

Interaction of α_2 -macroglobulin with neutrophil and plasma proteinases.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 421, S. 316 - 326.

SASAZUKI, T. (1971):

Immunochemical and physicochemical properties of haptoglobin, antihemoglobin antibody, and their complexes with hemoglobin.

Immunochemistry, 8, 8, S. 695 - 704.

SATOH, M.; FUJINAGA, T.; OKUMURA, M. und HAGIO, M. (1995):

Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for quantitative measurement of serum amyloid A protein in horses.

Am. J. Vet. Res., 56, 10, S. 1286 - 1291.

SCHALM, O. W.; SMITH, R. und KANEKO, J. J. (1970):

Plasma protein: fibrinogen ratios in dogs, cattle and horses.

California Veterinarian, 29, S. 19 - 22.

SCHARFFETTER-KOCHANKE, K.; WASCHEK, M. und GRESSNER, A. M. (1995):

Kapitel: Reaktionen des Bindegewebes und Wundheilung.

In: DARGEL, R.: Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie.

Ullstein Mosby GmbH & Co.KG, Berlin/Wiesbaden

SCHMIDT, R. F.; THEWS, G. (1997):

Physiologie des Menschen.

Springer-Verlag, Berlin

SCHROEDL, W.; FUERLL, B.; REINHOLD, P.; KRUEGER, M. und SCHUETT, C. (2001):

A novel acute phase marker in cattle: lipopolysaccharide binding protein (LBP).

Journal of Endotoxin Research, 7, 1, S. 49 - 52.

SCHUMANN, R. R.; LEONG, S. R.; FLAGGS, G. W.; GRAY, P. W.; WRIGHT, S. D.; MATHISON, J. C.; TOBIAS, P. S. und ULEVITCH, R. J. (1990):

Structure and Function of Lipopolysaccharide Binding Protein.

Science, 249, S. 1429 - 1431.

SCHUMANN, R. R. und ZWEIGNER, J. (1999):

A Novel Acute-Phase Marker: Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP).

Clin. Chem. Lab. Med., 37, 3, S. 271 - 274.

SCHWANTES, A. R.; SALZANO, F. M.; DE CASTRO, I. V. und TONDO, C. V. (1967):

Haptoglobins and leprosy.

Acta Genet. Stat. Med., 17, 1, S. 127 - 136.

SEETHANATHAN; BOTTOMS, G. D. und SCHAFER, B. S. (1990):

Characterization of release of tumor necrosis factor, interleukin 1, and superoxide anion from equine white blood cells in response to endotoxin.

Am. J. Vet. Res., 51, 8, S. 1221 - 1225.

SELLON, D. C.; LEVINE, J. F.; PALMER, K.; MILLIKIN, E.; GRINDEM, C. und COVINGTON, P. (1997):

Thrombocytosis in 24 horses (1989-1994).

J. Vet. Intern. Med., 11, 1, S. 24 - 29.

SELLON, D. C.; RUSSELL, K. E.; MONROE, V. L. und WALKER, K. M. (1999):

Increased interleukin-6 activity in the serum of ponies acutely infected with equine infectious anaemia virus.

Res. Vet. Sci., 66, 1, S. 77 - 80.

SERTEYN, D.; BENBAREK, H.; DEBY-DUPONT, G.; GRULKE, S.; CAUDRON, I.; DEBY, C. und LAMY, M. (1999):

Effects of acepromazine on equine polymorphonuclear neutrophil activation: a chemiluminescence study.

Vet. J., 157, 3, S. 332 - 335.

SIMPSON-HAIDARIS, P. J.; COURTNEY, M.-A.; WRIGHT, T. W.; GOSS, R.; HARMSEN, A. und GIGLIOTTI, F. (1998):

Induction of Fibrinogen Expression in the Lung Epithelium during *Pneumocystis carinii* Pneumonia.

Infection and Immunity, 66, 9, S. 4431 - 4439.

SKINNER, J. G. (2001):

International standardization of acute phase proteins.

Vet. Clin. Pathol., 30, 1, S. 2 - 7.

SLETTEN, K.; HUSEBEKK, A. und HUSBY, G. (1989):

The primary structure of equine serum amyloid A (SAA) protein.

Scand. J. Immunol., 30, 1, S. 117 - 122.

SMITH, P.; STUBLEY, D. und BLACKMORE, D. J. (1983):

Measurement of superoxid dismutase, diamine oxidase and caeruloplasmin oxidase in the blood of thoroughbreds.

Res. Vet. Sci., 35, S. 160 - 164.

SMITHIES, O.; CONNELL, G. E. und DIXON, G. H. (1962):

Chromosomal rearrangements and the evolution of haptoglobin genes.

Nature, 196, S. 232 - 236.

STEVERINK, P. J. G. M.; STURK, A.; RUTTEN, V. P. M. G.; WAGENAARHILBERS, J. P. A.; KLEIN, W. R.; VANDERVELDEN, M. A. und NEMETH, F. (1995):

Endotoxin, Interleukin-6 and Tumor-Necrosis-Factor Concentrations in Equine Acute Abdominal Disease - Relation to Clinical Outcome.

Journal of Endotoxin Research, 2, 4, S. 289 - 299.

STONEHAM, S. J.; PALMER, L.; CASH, R. und ROSSDALE, P. D. (2001):

Measurement of serum amyloid A in the neonatal foal using a latex agglutination immunoturbidimetric assay: determination of the normal range, variation with age and response to disease.

Equine Vet. J., 33, 6, S. 599 - 603.

SWARDSON, C. J.; LICHTENSTEIN, D. L.; WANG, S.; MONTELARO, R. C. und KOCIBA, G. J. (1997):

Infection of bone marrow macrophages by equine infectious anemia virus.

Am. J. Vet. Res., 58, 12, S. 1402 - 1407.

SWIDERSKI, C. E.; SOBOL, G.; LUNN, D. P. und HOROHOV, D. W. (2000):
Molecular cloning, sequencing, and expression of equine interleukin-6.
Vet. Immunol. Immunopathol., 77, 3-4, S. 213 - 220.

SZALAI, A. J.; AGRAWAL, A.; GREENHOUGH, T. J. und VOLANAKIS, J. E. (1999):
C-Reactive Protein: Structural Biology and Host Defense Function.
Clin. Chem. Lab. Med., 37, 3, S. 265 - 270.

TAIRA, T.; FUJINAGA, T.; OKUMURA, M.; YAMASHITA, K.; TSUNODA, N. und
MIZUNO, S. (1992a):
Equine haptoglobin: isolation, characterization, and the effects of ageing, delivery
and inflammation on its serum concentration.
J. Vet. Med. Sci., 54, 3, S. 435 - 442.

TAIRA, T.; FUJINAGA, T.; TAMURA, K.; IZUMI, M.; ITOH, H.; TSUNODA, N.;
YAMASHITA, K.; OKUMURA, M. und MIZUNO, S. (1992b):
Isolation and characterization of α 1acid glycoprotein from horses, and evaluation as
an acute phase reactive protein in horses.
Am. J. Vet. Res., 53, 6, S. 961 - 965.

TAKIGUCHI, M.; FUJINAGA, T.; NAIKI, M.; MIZUNO, S. und OTOMO, K. (1990):
Isolation, characterization, and quantitative analysis of C-reactive protein from
horses.
Am. J. Vet. Res., 51, 8, S. 1215 - 1220.

TAMZALI, Y.; GUELF, J. F. und BRAUN, J. P. (2001):
Plasma fibrinogen measurement in the horse: comparison of Millar's technique with a
chrometric technique and the QBC-Vet Autoreader.
Res. Vet. Sci., 71, 3, S. 213 - 217.

THEIR, M.; RONNHOLM, K.; SAIRANEN, H.; HOLMBERG, C. und JALANKO, H.
(2002):
Serum C-reactive protein in pediatric kidney and liver transplant patients.
Pediatr. Transplant., 6, 2, S. 153 - 160.

THOMAS, J. S. (2000a):

Kapitel: Overview of Plasma Proteins.

In: FELDMAN, B. V., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. und FELDMAN, B. F.: Schalm's Veterinary Hematology.

Lippincott, Williams & Wilkins, 5. Aufl., Philadelphia (USA)

THOMAS, J. S. (2000b):

Kapitel: Protein Electrophoresis.

In: FELDMAN, B. V., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. und FELDMAN, B. F.: Schalm's Veterinary Hematology.

Lippincott, Williams & Wilkins, 5. Aufl., Philadelphia (USA)

TILG, H.; DINARELLO, C. A. und MIER, J. W. (1997):

Il-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators.

Immunology Today, 18, 9, S. 428 - 432.

TOSATO, G. und PIKE, S. E. (1989):

A monocyte-derived B cell growth factor is IFN-beta 2/BSF-2/IL-6.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 557, S. 181 - 90, discussion.

VAN OERS, M. H.; VAN DER HEYDEN, A. A. und AARDEN, L. A. (1988):

Interleukin 6 (IL-6) in serum and urine of renal transplant recipients.

Clin. Exp. Immunol., 71, 2, S. 314 - 319.

VANDENPLAS, M. L.; MOORE, J. N.; BARTON, M. H.; ROUSSEL, A. J. und COHEN, N. D. (2005):

Concentrations of serum amyloid A and lipopolysaccharide-binding protein in horses with colic.

Am. J. Vet. Res., 66, 9, S. 1509 - 1516.

VOLKEL, D.; ZIMMERMANN, K.; ZERR, I.; LINDNER, T.; BODEMER, M.; POSER, S. und SCHWARZ, H. P. (2001):

C-reactive protein and IL-6: new marker proteins for the diagnosis of CJD in plasma?

Transfusion, 41, 12, S. 1509 - 1514.

VON FELLENBERG, R.; KOHLER, L.; GRUNIG, G. und PELLEGRINI, A. (1985):
Comparison of neutrophil elastases and of neutrophil protease inhibitors in the horse and man.

Am. J. Vet. Res., 46, 12, S. 2480 - 2484.

VON RECHENBERG, B.; LEUTENEGGER, C.; ZLINSKY, K.; MCILWRAITH, C. W.; AKENS, M. K. und AUER, J. A. (2001):

Upregulation of mRNA of interleukin-1 and -6 in subchondral cystic lesions of four horses.

Equine Vet. J., 33, 2, S. 143 - 149.

WADA, A.; YAMADA, T. und KUBOTA, N. (1997):

Measurement of serum amyloid A by commonly used automated analysers.

Ann. Clin. Biochem., 34 (Pt 5), S. 569 - 570.

WANG, Y.; KINZIE, E.; BERGER, F. G.; LIM, S. K. und BAUMANN, H. (2001):

Haptoglobin, an inflammation-inducible plasma protein.

Redox. Rep., 6, 6, S. 379 - 385.

WECKER, E. (1990):

Immunologie kurzgefasst.

BI-Wissenschaftlicher-Verlag, Mannheim

WEISS, D. J. und EVANSON, O. A. (2002):

Evaluation of lipopolysaccharide-induced activation of equine neutrophils.

Am. J. Vet. Res., 63, 6, S. 811 - 815.

WEISS, E. (1990):

Kapitel: Entzündung.

In: STÜNZI, H. und WEISS, E.: Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin.

Paul Parey, 8. Aufl., Berlin

WEYRICH, A. S.; LINDEMANN, S. und ZIMMERMAN, G. A. (2003):
The evolving role of platelets in inflammation.
J. Thromb. Haemost., 1, 9, S. 1897 - 1905.

WINDER, N. C.; PELLEGRINI, A. und VON FELLEBERG, R. (1989):
Immunohistochemical localisation of α_2 -macroglobulin in the horse.
Res. Vet. Sci., 47, S. 393 - 396.

WOOD, S. C. und FEDDE, M. R. (1997):
Effects of racing and gender on viscoelastic properties of horse blood.
Respir. Physiol., 107, 2, S. 165 - 172.

WRIGHT, S. D.; RAMOS, R. A.; TOBIAS, P. S.; ULEVITCH, R. J. und MATHISON, J. C. (1990):
CD14, a Receptor for Complexes of Lipopolysaccharide (LPS) and LPS Binding Protein.
Science, 249, S. 1431 - 1433.

XU, J.; LASRY, J. B.; SVAREN, J.; WAGNER, B. und DARIEN, B. J. (2005):
Identification of equine P-selectin glycoprotein ligand-1 (CD162).
Mamm. Genome, 16, 1, S. 66 - 71.

YAMASHITA, K.; FUJINAGA, T.; OKUMURA, M.; TAKIGUCHI, M.; TSUNODA, N. und MIZUNO, S. (1991):
Serum C-reactive protein (CRP) in horses: the effect of aging, sex, delivery and inflammations on its concentration.
J. Vet. Med. Sci., 53, 6, S. 1019 - 1024.

YANG, F.; GHIO, A. J.; HERBERT, D. C.; WEAKER, F. J.; WALTER, C. A. und COALSON, J. J. (2000):
Pulmonary Expression of the Human Haptoglobin Gene.
Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 23, S. 277 - 282.

YANG, F.; HAILE, D. J.; COALSON, J. J. und GHIO, A. J. (2001):
Haptoglobin in lung defence.
Redox. Rep., 6, 6, S. 372 - 374.

8 ANHANG

Tab I: klinische, hämatologische und serologische Parameter der Referenzgruppe (n=50)

Parameter		Stuten	Hengste	Wallache	Gesamt
Puls min ⁻¹	\bar{x}	39	37	39	38
	SD	4	5	6	5
Atmung min ⁻¹	\bar{x}	13	14	15	14
	SD	3	3	8	4
Temperatur in °C	\bar{x}	37,7	37,6	37,7	37,6
	SD	0,2	0,2	0,3	0,2
WBC (ABC) x 10 ⁹	\bar{x}	8,35	8,29	6,91	8,03
	SD	1,23	1,32	1,02	1,34
HKT (ABC) in l/l	\bar{x}	32,0	33,2	35,1	33,2
	SD	4,8	4,5	4,0	4,5
PLT (ABC) x 10 ⁹	\bar{x}	109	131	113	121
	SD	41	47	43	45
Lymphozyten (ABC) in %	\bar{x}	24	27	35	28
	SD	5	10	7	9
Monozyten (ABC) in %	\bar{x}	4	5	6	5
	SD	1	2	1	1
PNG (ABC) in %	\bar{x}	72	68	59	67
	SD	5	11	8	10

Lymphozyten (ABC) x 10 ⁹	\bar{X}	1,9	2,2	2,4	2,2
	SD	0,5	0,9	0,6	0,8
Monozyten (ABC) x 10 ⁹	\bar{X}	0,3	0,4	0,4	0,3
	SD	0,1	0,2	0,1	0,1
PNG (ABC) x 10 ⁹	\bar{X}	6,1	5,7	4,2	5,5
	SD	1	1,2	0,9	1,3
HKT (QBC) I/I	\bar{X}	35,8	37,4	33,5	36,2
	SD	5,2	4,9	4,2	5,0
WBC (QBC) x 10 ⁹	\bar{X}	8,14	8,23	7,12	7,98
	SD	1,08	1,27	0,97	1,2
PNG (QBC) x 10 ⁹	\bar{X}	5,33	5,27	4,1	5,05
	SD	1,15	1,2	0,69	1,19
PNG (QBC) in %	\bar{X}	65	64	58	63
	SD	7	12	7	10
L/M (QBC) x 10 ⁹	\bar{X}	2,82	2,94	2,96	2,91
	SD	0,48	1,2	0,8	0,94
L/M (QBC) in %	\bar{X}	35	36	42	37
	SD	7	12	7	10
PLT (QBC) x 10 ⁹	\bar{X}	174	225	187	202
	SD	24	71	42	59
Fibrinogen	\bar{X}	290	293	266	287

(QBC) mg/dl	SD	43	43	25	41
Fib. (CLAUSS) in mg/dl	\bar{x}	182	187	175	183
	SD	31	30	18	28
TPP in g/l	\bar{x}	67,1	68,0	62,6	66,7
	SD	5,0	4,4	3,4	4,8
Albumin in g/l	\bar{x}	36,1	34,2	31,5	34,3
	SD	2,9	2,8	3,3	3,3
Globulin in g/l	\bar{x}	31,1	33,7	31,1	32,4
	SD	5,2	5,1	5,1	5,2
Haptoglobin mg/ml	\bar{x}	1,76	1,12	1,12	1,31
	SD	0,62	0,37	0,68	0,59

Tab II : Pulswerte der Gruppen 1, 2 und 3 in min^{-1} im Vergleich

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	37	39	38	36	37	36	36
	SD	6	5	5	4	6	4	3
	n=	24	15	23	24	24	23	4
2	\bar{x}	38	38	37	36	37	37	29
	SD	7	5	7	4	5	4	2
	n=	25	17	23	25	24	22	4
3	\bar{x}	40	40	39	39	37	38	39
	SD	5	7	6	5	5	5	5
	n=	30	25	29	31	30	27	6

Tab III: Atemfrequenz der Gruppen 1, 2 und 3 in min^{-1} im Vergleich

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	11	12	11	10	11	11	12
	SD	2	2	2	1	3	3	3
	n=	24	15	23	24	24	23	4
2	\bar{x}	11	11	11	10	10	9	10
	SD	2	2	2	1	2	1	2
	n=	25	17	23	25	24	22	4
3	\bar{x}	13	12	12	13	13	12	20
	SD	4	4	5	6	7	4	10
	n=	29	25	29	31	30	27	6

Tab IV: Körpertemperatur der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $^{\circ}\text{C}$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	37,4	37,5	38,1	37,7	37,5	37,5	37,6
	SD	0,3	0,3	0,4	0,6	0,3	0,3	0,3
	n=	22	13	21	24	24	22	4
2	\bar{x}	37,3	37,6	38,1	37,8	37,6	37,5	37,5
	SD	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6	0,6	0,2
	n=	23	13	22	24	23	22	4
3	\bar{x}	37,5	37,7	38,2	38,1	37,8	37,8	37,9
	SD	0,3	0,4	0,5	0,6	0,4	0,5	0,2
	n=	29	24	27	31	30	26	6
4	\bar{x}	38,3	38,3	38,3	38,9	38,6	38,6	39
	SD	0,2	0,4	0,5	0,4	0,6	0,6	0,7
	n=	12	12	11	12	12	12	11

Tab V: HKT der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in % gemessen mit VetABC (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich)

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	33,48	29,53	34,1	35,1	34,87	35,51	34,03
	SD	6,54	5,36	4,33	4,54	4,66	4,58	2,04
	n=	22	22	22	23	23	22	3
2	\bar{x}	37,62	32,52	35,64	34,17	34,21	33,78	30,04
	SD	6,59	5,39	6,3	5,57	4,8	4,57	3,55
	n=	27	27	27	27	26	24	5
3	\bar{x}	35,88	30,3	34,25	34,56	34,8	34,62	29,5
	SD	6,05	4,65	5,51	5,64	5,88	6,89	5,65
	n=	30	30	29	30	29	26	6
4	\bar{x}	36,87	36,02	36,2	37,39	33,23	31,45	31,26
	SD	3,3	4,32	4,18	4,15	4,57	4,56	4,85
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab VI: PLT der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/L$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	116	116	121	122	109	121	117
	SD	38,8	67,1	34,4	28,8	27,4	84,2	68,6
	n=	22	22	22	23	23	23	3
2	\bar{x}	151	127	142	133	131	129	135
	SD	41,9	37,1	43,4	43,8	43,7	45,6	49,7
	n=	27	27	27	27	26	24	5
3	\bar{x}	144	141	166	145	139	146	169
	SD	49,5	47,4	80,7	48,3	50,5	72	43
	n=	30	30	29	30	29	26	6

4	\bar{x}	160	202	196	198	150	140	167
	SD	33,8	46,7	38,4	40,6	30,8	21,5	29,7
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab VII: Gesamtleukozytenzahl der Gruppen 1, 2, 3 und 4 $\times 10^9/L$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	6,13	7,05	8,54	8,57	7,78	7,03	7,73
	SD	1,43	2,04	2,28	2,24	1,98	1,95	2,44
	n=	22	22	22	23	23	23	3
2	\bar{x}	6,93	7,01	8,89	8,64	8,2	6,96	6,74
	SD	1,56	1,68	2,19	2,11	2,25	1,4	1,03
	n=	27	27	27	27	26	24	5
3	\bar{x}	7,37	8,46	9,83	10,04	9	7,62	8,22
	SD	1,77	2,32	2,59	2,58	2,19	1,72	1,89
	n=	30	30	29	30	29	26	6
4	\bar{x}	10,94	13,84	14,89	14,81	14,6	13,42	12,81
	SD	1,59	2,22	2,46	2,45	2,62	2,74	1,8
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab VIII: Granulozytenzahl der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/l$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	4,2	5,6	7	7	5,8	5	5,1
	SD	1,2	1,8	2,2	2,1	1,7	1,7	1,9
	n=	22	22	22	23	23	23	3
2	\bar{x}	5,2	5,8	7,7	7,3	6,5	5,4	5,1
	SD	1,5	1,6	2,1	1,9	2,1	1,3	1,6
	n=	27	27	27	27	26	24	5

3	\bar{X}	5	6,7	8,1	8	6,6	5,5	5,4
	SD	1,2	1,7	2,3	2,1	1,9	1,5	0,9
	n=	30	30	29	30	29	26	6
4	\bar{X}	6,7	10,5	11,5	10,8	10,7	9,7	9,1
	SD	1,2	1,9	2,4	2	2,5	2,6	1,7
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab IX: segmentkernige neutrophile Granulozytenzahl der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/l$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
1	\bar{X}	3,4	5,0	6,2	6,4	5,2	4,0
	SD	1,1	1,5	2,5	2,3	1,7	1,8
	n=	21	21	20	21	21	20
2	\bar{X}	4,6	5,1	6,9	6,8	5,8	4,2
	SD	1,4	1,8	3,4	3,3	2,3	1,9
	n=	27	26	26	26	26	24
3	\bar{X}	4,1	5,5	6,7	7,5	6,3	4,1
	SD	0,9	1,3	1,9	2,7	2,2	2,6
	n=	18	18	81	18	18	15
4	\bar{X}	5,5	8,8	9,3	8,2	9,1	8,0
	SD	1,3	1,8	3,6	3,0	2,7	3,1
	n=	12	12	12	12	12	12

Tab X: stabkernige neutrophile Granulozytenzahl der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^6/l$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
1	\bar{X}	31,2	264,5	237,1	111,5	51,9	41,7
	SD	66,6	370,6	283,8	212,0	78,2	72,2
	n=	21	21	20	21	21	21

2	\bar{x}	65,2	361,4	665,1	334,3	149,4	67,1
	SD	88,4	301,0	581,0	377,6	233,7	96,4
	n=	27	26	26	26	26	24
3	\bar{x}	55,9	373,2	481,2	90,9	84,4	51,9
	SD	116,7	351,9	538,9	145,8	124,3	82,0
	n=	18	18	18	18	18	18
4	\bar{x}	157,1	638,8	762,0	348,7	273,1	250,4
	SD	112,2	557,2	548,9	292,9	126,7	337,6
	n=	12	12	12	12	12	12

Tab XI: Lymphozyten in den Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/L$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	1,8	1,2	1,3	1,3	1,7	1,8	2,4
	SD	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5
	n=	222	22	22	23	23	23	3
2	\bar{x}	1,5	1	0,9	1,1	1,4	1,3	1,5
	SD	0,4	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4	0,7
	n=	27	27	27	27	26	24	5
3	\bar{x}	2,1	1,4	1,4	1,6	2	1,8	2,4
	SD	1	0,8	0,7	0,7	0,8	0,7	1
	n=	30	30	29	30	29	26	6
4	\bar{x}	3,6	2,8	2,6	3,3	3,3	3,2	3,2
	SD	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab XII: Monozytenzahl der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in $\times 10^9/L$

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3
	SD	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	n=	22	22	22	23	23	23	3
2	\bar{x}	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
	SD	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
	n=	27	27	27	27	26	24	5
3	\bar{x}	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4
	SD	0,2	0,4	0,3	0,3	0,3	0,1	0,2
	n=	30	30	29	30	29	26	6
4	\bar{x}	0,7	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6	0,5
	SD	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab XIII: Totalplasmaprotein der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in g/l

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	65,4	63,4	69,9	68,3	66,9	66,8	64,3
	SD	4,4	6,3	4,8	5,3	4,3	5,3	4,2
	n=	21	20	20	21	21	20	3
2	\bar{x}	69,6	66,4	67,5	67,6	66,7	67,5	64,2
	SD	5,6	7	6,7	7,3	6,1	6,1	6
	n=	22	23	23	23	22	20	4
3	\bar{x}	65,7	66,9	72,2	71,9	69,9	70,7	70,9
	SD	4,5	6,3	7	5,7	6,4	6,9	7
	n=	29	29	28	29	28	25	6

4	\bar{x}	72,4	76,7	76,2	77,6	74,5	75,3	78,8
	SD	3,8	3,7	3,1	3,8	3,3	3,3	5,3
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab XIV: Albuminkonzentration der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in g/L

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	33,5	32,4	36,1	35,7	34,3	33,9	33,8
	SD	2,7	3,2	2,7	4	2,3	2,7	2,5
	n=	21	20	20	21	21	20	3
2	\bar{x}	33,2	31,6	33,2	32,2	31,2	30,9	26,1
	SD	5,5	5,9	6,3	6	5,5	5,7	7
	n=	22	23	23	23	22	20	4
3	\bar{x}	32,2	32,7	35,2	34,5	32	32,1	28,1
	SD	4,4	4,1	5,2	4,8	4,8	4,2	4,9
	n=	29	29	28	29	28	25	5
4	\bar{x}	32,8	35,2	36,2	35,4	33,1	32,8	32,6
	SD	2,6	2,9	2,9	2,6	2,6	2,4	2,8
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab XV: Globulinkonzentration der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in g/L

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	31,8	31,1	33,8	32,5	32,6	32,9	30,4
	SD	4,6	6	4,1	4	3,9	4,9	3,2
	n=	21	20	20	21	21	20	3
2	\bar{x}	36,3	34,9	33,2	35,4	35,5	36,6	38
	SD	7	7,1	8,9	6,7	5,9	6,5	6,7
	n=	22	23	23	23	22	20	4

3	\bar{X}	33,4	34,2	37	37,3	37,9	38,5	42,5
	SD	5,5	7,6	9,5	7,5	8	8,7	6,3
	n=	29	29	28	29	28	25	6
4	\bar{X}	39,5	41,5	40	42,2	41,3	42,5	46,2
	SD	4,3	4,7	4,2	4,3	4,3	4,2	6,9
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab XVI: SAA-Konzentration der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in µg/ml

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{X}	2,8	5,0	27,7	138,7	210,4	173,1	1,4
	SD	9,5	9,5	19,4	93,7	147,7	145,2	4
	n=	20	20	20	20	20	20	4
2	\bar{X}	22,3	24,2	68,1	199,1	275,6	302,5	121,2
	SD	54,3	51,3	64,6	143,8	194,9	196,3	206,1
	n=	21	21	21	21	20	18	4
3	\bar{X}	9,7	10,6	34,6	173,9	250,0	233,0	80,6
	SD	42,0	40,6	43,4	135,6	173,4	195,5	101,8
	n=	27	27	26	27	24	23	6
4	\bar{X}	0,7	1,5	6,9	107,3	203,8	250,7	214,7
	SD	0,2	1,2	5,9	77,7	128,5	176,6	259,0
	n=	12	11	12	12	12	12	12

Tab XVII: Fibrinogenkonzentration (CLAUSS) der Gruppen 1, 2, 3 und 4 in mg/dl

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{X}	172	170	186	214	239	234	207
	SD	30	30	31	33	45	46	32
	n=	24	23	23	24	24	24	4

2	\bar{x}	212	212	218	249	289	295	255
	SD	30	50	40	46	80	72	9
	n=	25	25	24	25	23	22	4
3	\bar{x}	191	195	206	241	267	275	285
	SD	40	50	47	43	53	65	43
	n=	31	31	30	31	30	27	6
4	\bar{x}	229	240	235	265	307	324	372
	SD	37	43	26	49	41	54	84
	n=	12	12	11	12	12	12	11

Tab XVIII: Fibrinogenkonzentration (VetQBC) der Gruppen 1, 2,3 und 4 in mg/dl

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	249	240	271	312	333	333	318
	SD	42	39	43	51	55	55	47
	n=	24	22	23	24	24	24	4
2	\bar{x}	322	303	328	354	414	409	361
	SD	52	56	57	61	81	90	48
	n=	27	27	27	27	26	24	5
3	\bar{x}	288	282	303	351	380	413	421
	SD	89	101	96	76	98	89	62
	n=	31	31	29	31	30	27	6
4	\bar{x}	353	391	396	446	505	536	588
	SD	48	74	85	54	55	73	170
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab XIX: Haptoglobinwerte der Gruppe 1, 2, 3 und 4 in mg/ml

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	1,7	1,3	1,6	2,1	2,9	3,2	2,5
	SD	0,8	0,8	0,9	1	1,5	1,6	1,1
	n=	24	23	23	24	24	24	4
2	\bar{x}	2,6	2,4	2,6	3,3	4,2	4,4	4,9
	SD	1	0,9	0,8	1,1	1,5	1,8	3,1
	n=	27	27	27	27	26	23	5
3	\bar{x}	1,8	1,7	2	2,5	3,3	3,7	3,2
	SD	0,9	1,1	1	1	1,3	1,7	1,1
	n=	31	31	30	31	30	26	6
4	\bar{x}	2,5	2,5	2,5	3	3,5	4,1	4,8
	SD	0,3	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,8
	n=	12	12	11	12	12	12	12

Tab XX: Interleukin-6 der Gruppen 1, 2 und 3 in IU/L

Gruppe		0-Wert	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	6./7. d
1	\bar{x}	58,9	115,6	107,2	68,5	57,8	50,6	16,5
	SD	41,3	123,8	90,7	59,1	39,6	32,1	10,6
	n=	10	9	9	10	10	9	2
2	\bar{x}	86,6	780,2	537,5	203,9	110,8	146,4	82,7
	SD	44,6	664,6	162,1	125,7	50,5	124,1	37,8
	n=	11	11	11	11	10	8	3
3	\bar{x}	80,6	126,3	154,3	144,2	116,8	72,6	13
	SD	79,3	97,7	93,1	131,9	124,7	63,5	3,6
	n=	9	9	8	9	9	7	3

9 DANKSAGUNG

Diese vorliegende Arbeit wäre ohne den Einsatz, die Beratung und Unterstützung einer Vielzahl von hilfsbereiten Menschen nicht zustande gekommen.

Für die Überlassung des Themas danke ich Herrn Prof. Dr. Litzke. Einen großen Anteil an der Planung, Gestaltung und Durchführung hatten auch Herr HDoz. Dr. Moritz DVM ECVIM CA, Herr Dr. Röcken und Frau Dr. Roscher.

Für das Sammeln von Proben danke ich dem Team der Tierklinik Starnberg und dem Tierpflegerteam des Gestütes Lewitz. Ohne ihre Mitarbeit wäre das Projekt nicht in der kurzen Zeit realisierbar gewesen.

Auch während der Laborarbeit war ich von einer Vielzahl guter Seelen umgeben. Ich danke der Belegschaft des Zentrallabors der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin und Laboratoriumsdiagnostik. Ich habe sicherlich einigen von ihnen ein paar graue Haare verschafft. Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Bauer DVM ECVCP, die mich mehr als einmal mit wichtigen Tipps und Ratschlägen versorgt hat. Auch Herrn Prof. Katz, Frau Dr. Speth, Frau Franck und Frau Arnold aus dem Institut für gilt mein ausdrücklicher Dank, ohne sie wäre die SAA-Bestimmung nicht möglich gewesen. Die Messung von Interleukin-6 wurde führte die Arbeitsgruppe von Herrn PD Dr. Roth aus dem Institut für Veterinärphysiologie durch. Für diese aufwendige Bestimmung bin ich allen Mitarbeitern sehr verbunden.

Herrn Dr. Failing von der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten.

Nicht unerwähnt soll die Unterstützung meines Freundes Martin bleiben, der meine Launen ertragen hat und mich während der „Schreibphase“ mit Nahrung und Zuversicht versorgt hat. Auch meine Eltern und meine Schwestern haben mit Rat und Tat ihren Anteil am Gelingen dieser Dissertationsschrift.

ERKLÄRUNG

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Disputation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Disputation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Giessen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

TÄ Miriam Miller

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D - 3 5 3 9 6 G I E S S E N

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5058-4



9 7 8 3 8 3 5 1 9 5 0 5 8 0